

114

THESE

présentée

A LA FACULTE DES SCIENCES D'ORSAY
DE L'UNIVERSITE DE PARIS

pour l'obtention du titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE

(mention Sciences)

par Kaplan Muzaffer USTDAL

CONTRIBUTION à L'ETUDE de la TETANIE
d'HERBAGE des VACHES LAITIERES

Soutenue le 7 JUIL. 1971 devant la Commission d'Examen

Président : Monsieur H. CLAUSER

Examineurs : Monsieur C. THIBAUT
Monsieur R. VUILLAUME



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41550415_0032

THESE

présentée

A LA FACULTE DES SCIENCES D'ORSAY
DE L'UNIVERSITE DE PARIS

pour l'obtention du titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE

(mention Sciences)

par Kaplan Muzaffer USTDAL

CONTRIBUTION à L'ETUDE de la TETANIE
d'HERBAGE des VACHES LAITIERES

Soutenue le

devant la Commission d'Examen

Président : Monsieur H. CLAUSER

Examineurs : Monsieur C. THIBAUT
Monsieur R. VUILLAUME

THESE

A LA FACULTE DES SCIENCES D'ORLANS

DE L'UNIVERSITE DE PARIS

SECTION DE CHIMIE

CHIMIE ORGANIQUE

COMPTES RENDUS DE LA FACULTE

CHIMIE ORGANIQUE



A Monsieur le Professeur H. CLAUSER

Professeur de Biochimie à la Faculté des Sciences d'Orsay, qui nous a toujours aidé avec bienveillance et a bien voulu accepter la présidence de jury de cette thèse, nous tenons à exprimer notre vive reconnaissance.

Qu'il trouve ici l'assurance de notre profond respect.

A Monsieur le Professeur C. THIBAUT

Professeur à la Faculté des Sciences
Paris VI, qui a bien voulu accepter de faire partie
de notre jury de soutenance.

Hommage respectueux.

Ce travail a été effectué dans le laboratoire de Monsieur le Professeur R. VUILLAUME, Service de Biochimie de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort qui a bien voulu nous accueillir.

Il nous a proposé le sujet de cette thèse, nous a constamment guidé et éclairé de ses conseils et nous a fait l'honneur d'accepter de faire partie de notre jury.

Nous ne savons comment lui exprimer notre profond respect et toute notre gratitude.

A Monsieur le Professeur CHARTON

Directeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort
Respectueux hommage pour son accueil bienveillant

A Monsieur le Professeur LAGNEAU

Professeur de Pathologie de la Reproduction
à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort

grâce à qui nous avons pu réaliser notre expérimentation

A Monsieur le Professeur MILHAUD

Professeur de Pharmacie et Toxicologie
à L'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort

qui nous a toujours accueilli avec bienveillance dans
son laboratoire

Hommages respectueux

A Monsieur le Docteur Vétérinaire RIVIERE

A Monsieur MAUPETIT, Chef du Laboratoire

Laboratoire de Nutrition
Institut d'Elevage et de Médecine Vétérinaire
des Pays Tropicaux - Alfort

qui nous ont permis la réalisation des dosages par spectro-
photométrie d'absorption atomique

Qu'ils trouvent ici l'expression de nos sincères
remerciements

Nous tenons à remercier très vivement,

Le personnel des Services de Chimie Biologique et
Pharmacie-Toxicologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort

qui nous a permis de mener à bien ce travail.

Notre reconnaissance est également acquise :

Aux Docteurs Vétérinaires DEVULDER, LEFEBVRE et DESENCLOS (Pas de Calais)

Au Docteur Vétérinaire VENTURINI (Seine Maritime)

Aux Docteurs Vétérinaires TUNCEL et HERVOUIN (Ille et Vilaine)

Aux Docteurs Vétérinaires DUFETRELLE et LEBOSSÉ (Eure)

dont le concours nous a été précieux pour la réalisation de ce travail.

INTRODUCTION

Chapitre I

ETIOLOGIE

A - CAUSES PREDISPOSANTES

- 1 - Epoque de la Maladie et Facteurs Atmosphériques
- 2 - Race
- 3 - Age, Sexe et Facteurs Endocriniens
- 4 - Alimentation

B - PATHOGENIE

Na, K, Ca, Mg : Répartition

Biochimie

Métabolisme : - Apport
- Absorption
- Perte

Chapitre II

A - ETUDE DE LA MALADIE DES VACHES ATTEINTES DE TETANIE

Matériel et Méthodes

Résultats

Discussion

B - ETUDE EXPERIMENTALE

Matériel et Méthodes

Résultats

Discussion

CONCLUSION

BIBLIOGRAPHIE

INTRODUCTION

C'est en 1928 que l'on trouve pour la première fois la notion de tétanie d'herbage dans la littérature. C'est SJOLLEMA (138) aux Pays-Bas, qui sous le nom de "Kopziekte" décrit une maladie qui atteint les bovins, et dont l'apparition est caractérisée par une tétanie et un taux abaissé du magnésium sérique. Cette notion est reprise et confirmée successivement en Grande Bretagne (94, 41, 11, 1), en Irlande (107) et dans d'autres pays européens (60, 9, 45), en Nouvelle Zélande (71) et aux Etats Unis (100).

Les études montrent une incidence de la tétanie hypomagnésique chez les vaches laitières de 0,5 % en Angleterre (91) et de 1,1 % dans le Sud de l'Ecosse, avec de plus chez 8,7 % des vaches un taux bas de magnésium du serum sans symptômes de tétanie (24).

Aux Pays-Bas KEMP (80) estime 30 à 50 % au printemps et en automne le nombre de vaches hypomagnésiques dont 2 à 3 % présentent des signes cliniques (132, 102).

Dans le Nord de la France des enquêtes réalisées récemment pendant deux années consécutives dénombrent 11,3 % de vaches atteintes (33, 2).

Définition clinique :

De nombreux auteurs rapportent que tous les bovins, ainsi que les ovins peuvent être touchés par la maladie ; toutefois, l'importance économique concerne surtout les vaches laitières puisque la majorité des cas cliniques est constituée d'animaux en pleine période de lactation.

Le plus souvent la maladie se développe au printemps chez des bovins remis au pâturage en période de croissance rapide de l'herbe ; elle apparait aussi en automne au moment de la repousse de l'herbe. Tout d'abord il y a une baisse dans la production laitière avec diminution de l'appétit

et ralentissement de la rumination. L'animal, s'isole du troupeau, son regard devient anxieux, puis il présente des grincements de dents et une extension de la tête sur l'encolure. Le rythme respiratoire est accéléré, les muqueuses sont congestionnées, les battements de coeur sont tumultueux. Il apparait une difficulté de la démarche avec boiteries, raideurs et tremblements des muscles. Plus tard les troubles de la locomotion s'aggravent, le chancellement et les convulsions s'accroissent. Des contractions cloniques et tétaniques accompagnent du trismus et une raideur générale. De la diarrhée existe parfois. L'hyperesthésie est caractéristique. La lumière ou le bruit peuvent suffire à provoquer des excitations et à déclencher une crise de tétanie typique. La mortalité est souvent élevée. LEECH et Coll. (91) la situent à environ 30 % des cas cliniques. De GROOT (62) pense que la maladie peut raccourcir la vie des vaches, car une hypomagnésie prolongée exerce une influence défavorable sur les fonctions cardiaques.

CHAPITRE I : ETIOLOGIE

On distingue deux parties dans l'étiologie de la tétanie hypomagnésique : les causes prédisposantes et les causes déterminantes.

A - CAUSES PREDISPOSANTES

Malgré la soudaineté de son apparition et la rapidité de son évolution, on trouve dans la littérature, plusieurs causes prédisposantes qui sensibilisent les animaux susceptibles d'être atteints. Les principales sont énumérées et discutées ci-après.

1 - Epoque de la Maladie et Facteurs Atmosphériques :

Toutes les recherches ont permis d'établir qu'il existe une période de l'année où la fréquence des atteintes tétaniques subit un accroissement considérable. L'incidence la plus élevée de l'hypomagnésie chez les vaches lactantes est enregistrée durant les trois ou quatre premières semaines de pâture au printemps, et un second maximum plus faible que le précédent en automne.

La maladie apparaît davantage pendant les journées froides, en corrélation avec de brusques changements de temps (150), et avec des taux d'humidité relativement élevés. Ainsi aux Pays-Bas, 95 % des cas apparaissent quand la température moyenne est entre 5 et 15° C (154).

De même, en hiver, WALSHE et CONWAY (165) ont signalé des cas d'hypomagnésie chez des bovins à l'engraissement pâturent par temps d'hiver brumeux, et d'autre par SEEKLES et HENDRIKS (134) appellent l'attention sur le danger que présentent les étés humides et rudes avec de brusques changements de température.

KRACKENBURGER et PETERSON (85) ont étudié l'effet de l'environnement sur la concentration en magnésium des plantes : un sol riche en potassium

et en calcium et de fortes chutes de pluie tendent à diminuer la concentration en magnésium et la sécheresse tend à l'augmenter. De plus, d'après certaines études (82, 124) l'apport de magnésium pour les animaux pendant les premières semaines de pâture serait inhabituellement bas (ceci dû partiellement à une concentration plus basse que la moyenne du magnésium dans la matière sèche, et partiellement à un bas apport de matière sèche). Enfin la disponibilité apparente du magnésium alimentaire serait en moyenne plus basse pour l'herbe (126) que pour les fourrages secs.

BURAU et STOUT (23) attirent l'attention sur le fait que sous des conditions d'environnement défavorables en automne ou tôt au printemps, quand la température est trop basse pour la croissance des plantes, une photosynthèse continue peut conduire à l'accumulation de métabolites qui peuvent avoir un effet nuisible sur les animaux qui les ingèrent.

2 - Race :

Puisque la maladie apparaît parmi des races grandes laitières, ceci peut avoir une signification bien que la sensibilisation des races ne soit pas bien établie. Les auteurs citent l'affection comme étant plus commune chez les AYRSHYRE (8) et les F.F.P.N. (33).

3 - Age, Sexe et Facteurs Endocriniens :

Bien que la maladie soit plus commune chez les bovins en lactation, il apparaît que le pourcentage des bovins atteints augmente avec l'âge (12). Dans les exploitations, ce sont les femelles laitières qui sont prédisposées à cause de la demande physiologique due à la gestation et à la lactation. Les vaches de 4 à 6 ans sont plus spécialement exposées au danger de la tétanie (134), et la plupart des cas se produisent entre les 20ème et 90ème jour après vêlage (33, 88). Chez les animaux qui développent une hypomagnésie, il n'y a pas de réduction du contenu magnésien du lait sécrété, et la nécessité du magnésium pour la sécrétion laitière (0,5 g de magnésium pour 5 litres) semble avoir une haute priorité. C'est pour cela par exemple que chez une vache lactante, un régime apportant 3 g de magnésium par jour risque de provoquer une hypomagnésie plus forte qu'un régime apportant seulement 0,5 g

chez une vache non lactante (54). Donc pendant la sécrétion laitière, la demande en magnésium s'élève. En absence d'un apport suffisant de magnésium par le tractus intestinal, celui-ci doit être fourni à partir des réserves corporelles. Le magnésium immédiatement disponible est celui du serum et d'autres liquides extra-cellualires.

En ce qui concerne la relation entre l'âge et la sensibilité à la tétanie d'herbage, BLAXTER et MacGILL (12) attirent l'attention sur le rôle que peut jouer la quantité de magnésium mobilisable du squelette. Cette quantité de magnésium "labile" baisse au fur et à mesure que l'animal vieillit (probablement à cause de l'inaptitude de l'organisme à mobiliser le magnésium du squelette) ; il meurt de tétanie en ayant peu ou pas épuisé son magnésium osseux. Il est déjà apparu à la suite des essais de CUNNINGHAM (35, 36) que des bovins morts de tétanie hypomagnésique à l'âge adulte conservaient la même teneur en magnésium du squelette que des bovins non atteints d'hypomagnésie, alors que BLAXTER et SHARMANN (14) trouvent que des veaux morts de tétanie hypomagnésique ont perdu jusqu'à 60 % du magnésium existant normalement dans le squelette.

CARE et Coll. (28) suggèrent que la plupart des larges variations individuelles dans la réaction des différents animaux à des facteurs provoquant l'hypomagnésie peut être attribuée à des influences endocriniennes. D'après ces auteurs, le temps froid et l'humidité provoquent une sécrétion augmentée de la thyroxine. Cette hormone diminue le rapport d'absorption du magnésium et réduit la concentration magnésienne dans le plasma.

De même l'aldostérone inhibe l'absorption du magnésium dans les intestins (129) et en augmente l'excrétion (26).

L'influence possible des oestrogènes sur le métabolisme du magnésium et du calcium n'est pas connue, mais empiriquement il semble que l'oestrus peut précipiter les symptômes cliniques chez le bovin qui a déjà atteint un certain degré d'hypomagnésie (8).

4 - Alimentation :

L'importance de l'alimentation dans l'apparition de l'hypomagnésie est mise en évidence par le fait que la plupart des accidents surviennent quand les animaux voient leur régime alimentaire modifié : il s'agit en général du passage de la nourriture d'hiver à l'herbe de printemps.

L'alimentation est peut-être un facteur réel dans l'étiologie de cette maladie, mais de nombreuses hypothèses contradictoires s'élèvent concernant sa nature et son mode d'action ; ce point constitue la partie la plus discutée du problème et conserve encore son incertitude.

Pratiquement tous les chercheurs sont d'accord sur le fait que l'herbe de printemps ne fournit pas aux animaux autant de magnésium assimilable qu'un régime de foin, mais les divergences surviennent quand il faut expliquer les raisons qui provoquent cet abaissement.

Selon un groupe d'auteurs, c'est la forte teneur en protéines brutes de l'herbe de printemps qui serait à l'origine de l'hypomagnésie, car ils trouvent une relation négative entre le taux de protéines de l'herbe et le magnésium sérique (104, 17, 66, 89). On a toujours constaté qu'une baisse de magnésium sérique apparaît chez les vaches pendant leurs sorties en herbage de printemps. HEAD et ROOK (65) dans leurs calculs rapportent un apport de magnésium d'environ 21 à 25 g par jour dans les rations habituelles d'hiver comparé à environ 12,5 g par jour dans des rations d'herbe fraîche.

Selon KEMP (78, 79, 81), s'il y a une forte application d'engrais azotés et potassiques dans la prairie, l'engrais azoté avec de la potasse change la composition minérale de l'herbe ; il y a augmentation du potassium et de la protéine brute et diminution des concentrations en magnésium, calcium et sodium. Cet auteur (83) suggère qu'une forte teneur en protéine brute de l'herbe a tendance à diminuer "l'assimilabilité" du magnésium de cette herbe mise à la disposition de la vache, à la fois en diminuant la teneur totale en magnésium de l'herbe et en diminuant "l'assimilabilité" du magnésium ingéré.

Il semble que (65) la dégradation des protéines venant de l'herbe dans le rumen conduit à un fort pourcentage de production d'ammoniac, qui à son tour interfère avec la disponibilité du magnésium, car la forte concentration en azote et phosphate de l'herbage immature conduirait à la formation de phosphate ammoniaco-magnésien insoluble au pH alcalin dans l'intestin (47). Il apparaît que la concentration protéinique de l'herbe croît parallèlement à celle des lipides ; WIND et Coll. (169) suggèrent ainsi que les acides gras élevés peuvent interférer par la formation des sels de magnésium insolubles et réduire ainsi l'assimilation.

A ce sujet, selon une enquête récente du Mudd (106), il n'y a pas évidence que l'addition de fertilisant potassique, ou une combinaison potassique et azotée, ou d'un engrais azoté à la pâture diminue le taux de magnésium de l'herbe, mais il trouve toutefois intéressant de noter que des vaches nourries avec l'herbe de parcelles non fertilisées ont seules une balance de magnésium positive, comparée aux balances du magnésium de vaches nourries avec de l'herbe de parcelles différemment fertilisées. Ceci pourrait être dû à la différence de disponibilité du magnésium de l'herbe. Dans cette expérience pendant la saison entière, la moyenne d'excrétion urinaire journalière du magnésium pour les vaches nourries avec l'herbe des parcelles traitées soit avec potasse, soit avec azote plus potasse était de $3,28 \pm 1,43$ g par jour comparée à l'excrétion urinaire de $2,12 \pm 1,26$ pour les vaches nourries sur des parcelles traitées à l'azote ou non traitées. Comme il n'y a pas de différence significative dans l'apport journalier en magnésium, l'auteur pense que la fertilisation à la potasse a un effet spécifique sur le rein.

Pour d'autres chercheurs, qui ont mis en évidence un taux élevé de trans-aconitate en début de saison dans l'herbe fourragère, l'ion trans-aconitique qui est un inhibiteur du cycle des acides tricarboxyliques pourrait être partiellement responsable de désordres nutritionnels, tels que la tétanie d'herbage (23, 147).

BOHMAN et Coll. (15, 16) qui plus tard effectuèrent des études sur le même sujet en administrant à des vaches de l'acide citrique et de l'acide

trans-aconitique accompagnés ou non de chlorure de potassium ne réussirent à provoquer des tétanies que quand les deux acides étaient ingérés en même temps que du chlorure de potassium. Le chlorure de potassium seul, ne provoquait pas lui non plus de tétanie.

Dans les recherches de la cause de l'hypomagnésie, les variations de concentration de l'histamine dans le sang firent également l'objet d'un certain nombre d'expériences. Ainsi, O'SULLIVAN (111) détermine la concentration en magnésium et en histamine. Toutes les nourritures tétanigènes contiennent moins de 0,25 % de magnésium rapporté à la matière sèche et il constate que la concentration en histamine s'est généralement élevée de 1,2 à 20,3 microgrammes par gramme de matière sèche. Dans les échantillons d'herbe prélevés durant le printemps, il y avait une élévation brutale de la concentration en histamine.

B - PATHOGENIE (Causes Déterminantes)

La tétanie est un état pathologique caractérisé par une hyperexcitabilité mécanique et électrique du système neuro-musculaire. La lésion primaire provoquant la tétanie n'est vraisemblablement pas dans les fibres musculaires, ni dans le système nerveux central, mais elle peut être décrite comme facilitant la transmission neuro-musculaire qui se produit juste avant la tétanie (157). L'excitabilité du système neuro-musculaire dépend non seulement de la concentration en ion magnésium, mais de la concentration d'autres constituants ioniques. La relation a été classiquement exprimée par le rapport suivant (32) :

$$\frac{[Na^{+}] + [K^{+}]}{[Ca^{++}] + [Mg^{++}] + [H^{+}]}$$

Pendant la tétanie d'herbage où il s'agit d'une hyperexcitabilité, le rapport ci-dessus est plus élevé que normalement. Il est considéré que cette élévation peut résulter, soit d'une augmentation du numérateur, soit d'une diminution du dénominateur.

Au tableau 1 un certain nombre de récapitulations bibliographiques

Tableau I

Résultats des différents auteurs, concernant la composition sanguine
des animaux atteints de tétanie d'herbage

Auteurs	Mg	Ca	K	Na	P total	P inorg.	Divers
(7)	-	- (3/4)					
(56,57)							Histamine - : dans sang Histamine + : dans plasma
(62,68)	-	-					Glucose + ; pH - Acide lactique +
(71)	-	-	=	=		<u>+</u>	
(87)	-	- (1/8)	=	=; -	=	=	Cl ⁻ =
(88)	-	- (1/2)	=	=	=		pH =, protéines =
(100)	-	-				-	glucose = ; N non protéique =; acetone =
(108)	-	-				-	glucose + N non protéique =
(132)							Histamine <u>+</u>
(136)	-	-	+			<u>+</u>	
(142)	-	=	=				Sucres = Cétones =
(158)	-	=	=	=			Réserve alcaline = Cl ⁻ =
(160)	-	- (1/2)				=	Cl ⁻ =
(163)							SO ₄ ⁻⁻ +

ont été résumées. Les signes utilisés indiquent les variations observées :

- : diminution
- + : augmentation
- + : altération
- = : sans changement

Dans la colonne du calcium, les proportions de cas ont été indiquées entre parenthèses.

SODIUM :

De nombreux auteurs signalent que l'hypomagnésie se développe indépendamment de l'apport alimentaire en sodium (77, 81, 22, 125, 28).

POTASSIUM :

On a toujours constaté que la maladie sévit dans les pâturages où sont appliqués de forts engrais potassiques (76, 78, 142, 73). Il a toutefois été impossible de réaliser des hyperkaliémies par voie bucale, puisque l'organisme élimine constamment le potassium par l'urine et les excréments (90).

CALCIUM :

Comme on le voit dans le tableau 1, la calcémie est assez souvent abaissée. Il semble que l'hypocalcémie qui se développe en concomitance avec l'hypomagnésie est indépendante du contenu du régime en calcium (125) ; en effet, dans une expérience, l'administration à des veaux à la fois hypocalcémiques et hypomagnésiques, de carbonate de calcium ne restaurait pas le niveau du calcium du sérum à un taux normal, tandis que l'administration de carbonate de magnésium restaurait à la fois le calcium et le magnésium à des taux normaux (112, 141).

Dans leur expérience DISHINGTON et POLLERSRUD (40) suggèrent que la tétanie d'herbage clinique peut être partiellement masquée par un taux normal de calcium sanguin puisque l'hypocalcémie expérimentale déclenche les symptômes de l'hypomagnésie.

MAGNESIUM :

Distribution dans l'organisme :

La présence de magnésium dans les organismes vivants a été constatée depuis au moins un siècle (HOLMES, 1859 ; 70). Le corps animal contient environ 0,05 pour cent de son poids en magnésium dont presque 70 % dans le squelette, 30 % dans les cellules des tissus mous et seulement 1 % dans le secteur extra-cellulaire (127, 135). Le rapport normal du calcium et du magnésium dans les os est de 55/1 : le contenu magnésien de l'os, du muscle et des tissus nerveux est donné comme étant environ, respectivement de 2 g, 0,2 g et 0,1 g de magnésium par kilogramme de poids vif (3). Au point de vue des quantités de chaque cation présent dans le corps, le magnésium est le quatrième, venant après le calcium, le sodium et le potassium. BLAXTER et MacGILL (12) évaluent le contenu magnésien dans le corps en relation avec le poids corporel par l'équation suivante :

$$\text{Mg (en g)} = 0,655 \text{ du poids (en kg)} - 3,5$$

Dans le squelette le magnésium facilement mobilisable est lié à la surface des cristaux osseux, probablement à des groupements phosphates du cristal apatite ; tandis que le magnésium plus fortement lié peut être une part intégrale de la maille des cristaux osseux. La libération du magnésium du squelette n'est apparemment pas sous la régulation hormonale, mais probablement contrôlée par la concentration d'ions magnésium dans le fluide extra-cellulaire qui baigne la surface de l'os minéral (156).

En dehors de l'os, le magnésium apparaît principalement être intra-cellulaire. Il y a une grande variation de concentration à travers la paroi cellulaire. A l'intérieur de la cellule, le magnésium est le cation le plus abondant après le potassium. La concentration du magnésium dans les cellules est d'environ 36 mg/100 ml (30 meq/litre) comparée avec une concentration plasmatique d'environ 2,4 mg/100 ml (2 meq/litre) (128, 97). Une grande proportion du magnésium semble être localisée dans les mitochondries et ribosomes (155, 115). Comme les ions K^+ , les ions Mg^{++} sont principalement des cations intra-cellulaires dont dépendent de nombreuses réactions enzymatiques par exemple les trans-phosphorylations (92, 4). Par contre le Ca^{++} est activement

rejeté de la cellule comme l'est Na^+ ; le calcium et le sodium sont liés plus fortement que le magnésium et le potassium aux parois cellulaires et on a suggéré que c'est la nature des liaisons avec les anions qui pourrait produire cette discrimination (170).

Biochimie du magnésium :

Magnésium dans la synthèse des protéines :

Le magnésium est nécessaire virtuellement dans chaque étape de la synthèse des protéines ; dans l'activation des enzymes spécifiques (109, 131, 55), dans le maintien de l'intégrité structurale et pour l'attachement du messenger RNA aux ribosomes (63, 18, 151, 103, 37), et dans l'étape finale des synthèses protéiques, l'interaction entre le ribosome messenger RNA et les molécules de S - RNA chargé avec un amino-acide spécifique (130, 61).

Phosphatase alcaline activée par le magnésium :

La phosphatase alcaline des mammifères est activée par ce cation (46). La phosphatase alcaline a un grand éventail de substrats, hydrolysant les orthophosphates organiques de presque tous les types ; de plus elle hydrolyse les pyrophosphates organiques et inorganiques (42, 43, 44, 49, 34). L'activité orthophosphatasique est augmentée par les ions magnésium, tandis que l'activité pyrophosphatasique est inhibée par le magnésium à un pH optimum (pH = 9). Un rôle biochimique possible d'une telle activité pyrophosphatasique dans la résorption osseuse ne paraît pas vraisemblable du fait du pH optimum élevé de la pyrophosphatase (119).

Créatine et pyruvate kinase :

Dans la réaction de créatine kinase, le complexe Mg - nucléotide est le substrat actif. A des concentrations fortes, l'ion Mg^{++} est un inhibiteur non compétitif dans les réactions catalysées par cet enzyme (105).

Il a été établi que la pyruvate-kinase a un besoin obligatoire d'un ion bivalent (Mg^{++}) et d'un ion monovalent (K^+). Ici le magnésium est l'activateur naturel (101). La réaction de pyruvate kinase est inhibée compétitivement par le Ca^{++} et par le Na^+ avec le Mg et K (19, 25).

Enolase .

Dans la forme active de l'enzyme catalysant la déshydratation de l'acide phosphoglycérique en phosphoenolpyruvate, le magnésium est un co-facteur (166, 98, 30, 153).

Il y a aussi plusieurs enzymes à activité ATPasique catalysant les réactions dans de nombreux systèmes biologiquement importants, incluant la phosphorylation oxydative de mitochondrie, la photosynthèse, le transport actif d'ion et la contraction musculaire (5, 118, 114, 58, 113, 75) qui ont besoin pour leur plus haute activité de magnésium. Dans ces réactions le complexe ATP - Mg constitue le substrat vrai, puisque l'excès de chacun, ATP ou Mg inhibe l'enzyme. Il y a aussi une autre enzyme ATPase activée par le magnésium, qui est trouvé associé à la membrane cellulaire dans de nombreux tissus, et est additionnellement activé par le sodium et le potassium (5, 99, 75).

Le magnésium est également un activateur de systèmes utilisant la thiamine pyrophosphate comme coenzyme (164, 170).

Métabolisme du magnésium

- Besoins et Apports :

Chez la vache adulte non lactante, il n'y a pas de réduction du magnésium sérique jusqu'à ce que la nourriture alimentaire soit abaissée à 1,5 g par jour (123, 127). D'après KEMP et Coll. (84), les quantités de magnésium journallement absorbées avec la nourriture et l'eau de boisson varient de 10 à 34 g. De cette quantité de magnésium alimentaire, 83 % en moyenne sont excrétées avec les fèces et le pourcentage d'utilisation s'élève en moyenne à 17 %. Ces derniers auteurs estiment que les besoins de rétention allant de 0 à 2,5 g de magnésium et le lait contenant en moyenne 0,12 g de magnésium par litre, on pourrait évaluer, pour une vache fournissant 25 litres de lait par jour, le magnésium disponible nécessaire à ses besoins suivant la formule :

$$2,5 \text{ g} + (0,12 \times 25) = 5,5 \text{ g}$$

D'après les résultats précédents, le magnésium ne représente que 17 % du magnésium alimentaire ; il faudrait donc $(100/17) \cdot 5,5 = 32$ g de magnésium alimentaire par jour en moyenne.

- Absorption :

Pour le magnésium, le principal site d'absorption paraît être le duodénum (53) bien que l'absorption se fasse aussi dans l'ileum et le jejunum (116). Il peut y avoir également quelque absorption dans l'estomac et le gros intestin (144). L'épithélium du rumen est relativement imperméable au calcium et au magnésium, et il n'y a pas d'absorption significative même quand les concentrations de ces cations fortement en excès par rapport à la normale, sont utilisées (117).

Dans la régulation de l'absorption magnésienne de la voie digestive, divers chercheurs ont suggéré que l'absorption peut se faire de différentes manières : simple diffusion, diffusion facilitée ou transport actif (168). ALCOCK et MacINTYRE (6), HENDRIX et Coll. (69) trouvent que le calcium et le magnésium sont absorbés compétitivement par un mécanisme simple et que leur absorption est partiellement ou complètement indépendante.

Par utilisation de ^{28}Mg et ^{47}Ca , CARE et VAN'T KLOOSTER (27) ont montré que le calcium et le magnésium interfèrent mutuellement leur absorption du mid-ileum du mouton et ont interprété ceci comme support pour un mécanisme commun d'absorption des deux cations. Ils suggèrent que le magnésium et le calcium peuvent être absorbés dans l'ileum par un processus de diffusion facilitée, tandis que l'absorption du calcium dans le duodénum est supposée être un processus actif qui est sensible à la vitamine D (139, 140, 112, 93).

- Perte :

Dans l'organisme le magnésium est éliminé principalement par 3 voies :

(a) - le tractus gastro-intestinal :

La masse commune du magnésium à absorber par l'organisme vient de deux sources ; du régime et du magnésium présent dans les sécrétions digestives.

La principale partie du magnésium quittant le corps apparaît dans les fèces. Le magnésium fécal consiste en la partie inabsorbée de l'apport alimentaire et du magnésium endogène qui entre dans le tractus digestif avec la salive et d'autres sécrétions digestives. Le pourcentage de rétention du magnésium alimentaire est très bas, de grandes quantités étant perdues dans les fèces (13). Le pourcentage de magnésium ingéré, excrété dans les fèces est en moyenne 71 à 75 % chez les bovins nourris avec des rations d'hiver et 82 - 83 % durant la nutrition à l'herbe (52). Le magnésium sécrété est probablement partiellement réabsorbé et une partie participe à la perte fécale endogène. Le magnésium fécal endogène peut être relativement plus élevé pour les ruminants que pour les animaux monogastriques. Ainsi après injection parentérale de ^{28}Mg , chez l'Homme, moins de 1% de la dose injectée est récupérée dans les fèces, en comparaison avec 20 % chez le Mouton (51, 95). La conséquence de ceci est que l'interférence avec l'absorption, peut conduire à une perte réelle du magnésium du fluide corporel aussi bien qu'à un manque d'absorption du magnésium alimentaire. Selon CARE (28) l'excrétion endogène du magnésium chez les ruminants est très appréciable et tandis que l'excrétion rénale du magnésium peut être réduite à des taux minima suivant une décroissance dans la concentration du magnésium du plasma, l'excrétion du magnésium dans le tractus digestif continue probablement sans être diminuée.

Il a été calculé qu'en 24 heures, un mouton secrète du calcium et du magnésium dans son tractus digestif en quantité équivalente à celle présente dans son fluide extra-cellulaire (145). Ainsi en absence de mécanisme homeostatique indépendant du tractus alimentaire, l'interférence avec le mécanisme d'absorption de ces deux éléments devrait conduire à un sérieux épuisement des ressources, reflété par une hypomagnésie et une hypocalcémie.

(b) - le rein

Le magnésium absorbé en excès par rapport aux besoins du corps est éliminé par le rein. L'excrétion urinaire apparaît donc comme étant contrôlée par un mécanisme de filtration-réabsorption dans lequel le magnésium se comporte comme une substance seuil, apparaissant dans l'urine seulement quand la charge

en magnésium filtré par le glomerulus excède celle réabsorbée par les tubulus (167). Il est suggéré que la réabsorption tubulaire du magnésium est ajustée aux besoins généraux du corps et que ce processus est le facteur important dans la régulation du magnésium (143). Il est généralement admis que l'excrétion urinaire de magnésium influencée par la concentration de l'élément dans le sang dépend du seuil rénal, qui est d'environ 1,8 - 2 mg/100 ml, et si le taux est en-dessous de cette concentration, il n'y a pas ou peu de magnésium dans l'urine (146).

(c) - la glande mammaire :

Le lait de vache contient en moyenne environ 12 mg de magnésium pour 100 ml. Cette concentration est 6 fois plus forte que celle du sang (161, 32). La concentration en magnésium du lait ne diminue pas, même quand le taux dans le sang est bas (13, 112). Il semble qu'elle est constante pour un large éventail de taux de magnésium dans le sérum. Ainsi une vache en lactation peut perdre journellement plusieurs grammes de magnésium par cette voie.

CHAPITRE II : EXPERIMENTATION

De très nombreuses divergences, dans la littérature sur l'étiologie de la tétanie d'herbage nous ont conduit à effectuer des travaux dans deux voies : l'une consistant à étudier la maladie, en effectuant au laboratoire des analyses de sang prélevé sur des animaux sains et malades, l'autre à tester quelques unes des dernières suppositions émises au sujet de la pathogénie de la maladie.

A - ETUDE DE LA MALADIE DES VACHES ATTEINTES DE TETANIE

Matériel et Méthodes :

Aux printemps 1969 et 1970, les prises de sang ont été effectuées avant tout traitement sur des animaux malades en clientèle des régions de l'Ille et Vilaine, de l'Eure, de la Seine-Maritime, de la Somme et du Pas de Calais, dans le Nord de la France. Pour chaque malade, la plus grande partie du sang (100 - 120 ml) a été mise dans un flacon préparé avec de l'héparine en vue de l'analyse ultérieure. D'autre part, pour le dosage de la réserve alcaline nous avons prélevé 10 à 15 ml de sang sous de la paraffine liquide (31). Les centrifugations ont été faites aussi rapidement que possible afin de séparer le plasma.

La réserve alcaline qui représente le nombre de volumes de CO₂, combiné à l'état de bicarbonates, contenus dans 100 volumes de plasma en équilibre avec l'air alvéolaire, a été déterminée en libérant par acidification le gaz carbonique et en le piégeant dans une solution d'hydroxyde de baryum où il a ensuite été titré. Cette méthode a été utilisée de préférence à celle de VAN SLYKE, à cause du faible encombrement de l'appareillage, facile à transporter et permettant de ce fait d'effectuer le dosage rapidement après le prélèvement.

Pour les dosages de sodium et de potassium, on a utilisé la photométrie de flamme (152). Nous avons choisi cette méthode pour sa grande simplicité d'utilisation et sa rapidité, par rapport aux méthodes par précipitation qui nécessitent une déprotéinisation préalable. Nous avons toujours eu soin de préparer des courbes standart pour chaque série de dosages. Le principe est basé sur le fait que lorsqu'on nébulise dans une flamme non lumineuse une solu-

tion d'un élément métallique, un certain nombre des atomes de celui-ci passant à l'état excité, émettent lors de leur retour à l'état fondamental, des radiations de longueur d'onde déterminée dont l'intensité peut être mesurée par photométrie. Seuls les alcalins et les alcalino-terreux ont un rapport (atomes excités/atomes à l'état fondamental) assez élevé pour que l'intensité de radiation puisse être mesurée.

Le calcium et le magnésium ont été dosés par spectrophotométrie d'absorption atomique (121). Cette technique a l'avantage de pouvoir être utilisée après simple dilution de sérum ou de l'urine, et après calcination pour les autres produits organiques. Dans cette méthode, à l'inverse de la photométrie de flamme, où on mesure une radiation lumineuse émise par l'élément quand il passe de l'état excité à l'état fondamental, on mesure l'intensité lumineuse absorbée par l'élément quand il passe de l'état fondamental à l'état excité. Pour cela, sur les atomes se trouvant à l'état fondamental dans une flamme, on envoie un faisceau lumineux de fréquence semblable à la fréquence de radiation de l'élément quand il passe de l'état excité à l'état fondamental. Les atomes absorbent cette radiation déterminée et passent à l'état excité. C'est alors la diminution d'intensité lumineuse du faisceau qui est mesurée. Un autre avantage de l'absorption atomique est sa grande spécificité, qualité qui dépend de la pureté chromatique de la lumière absorbée. L'emploi des lampes à cathodes creuse permet relativement aisément un isolement parfait de la raie de résonance.

Parallèlement le calcium et le magnésium ont été dosés par complexométrie. Le calcium (50) est précipité du sérum par de l'acide chloranilique. Le précipité lavé par de l'alcool isopropylique est dissous dans le complexon (EDTA) et la coloration rose formée est déterminée par mesure colorimétrique. Pour le magnésium (10), une fois que le calcium a été déterminé, on effectue sur un autre échantillon de sérum la détermination complexométrique du calcium et du magnésium ensemble en présence d'un mélange noir eriochrome T - rouge de méthyle. La différence entre les deux dosages représente le magnésium.

Les deux méthodes, absorption atomique et complexométrie, nous ont donné des résultats identiques.

Le phosphore du plasma a été dosé par la méthode de KURVEG et Coll. (86) et pour le phosphore total après minéralisation du sang nous avons utilisé la méthode de BRIGGS (110). Dans ces deux méthodes, le phosphore est classiquement

combiné à l'acide molybdique et le composé formé est ensuite réduit, ce qui provoque l'apparition d'une coloration bleue qui est déterminée colorimétriquement.

En raison des dégradations du glucose et du lactose pendant l'expédition des échantillons, nous n'avons pu donner de mesures concernant leurs valeurs.

Les calculs statistiques ont été interprétés au moyen du test de signification (t de STUDENT-FISHER), au moyen de corrélation entre deux variables et au moyen de l'analyse de variance des symptômes selon leur degré de gravité afin de pouvoir comparer nos résultats avec ceux de la littérature (88).

Arbitrairement pour la cotation du diagnostic vétérinaire, nous avons utilisé une évaluation du degré de gravité de la maladie en notant de 1° à 5° les symptômes, tels que :

- 1°: Symptômes précurseurs : diminution de production laitière, diminution de l'appétit et de la rumination. Légère diarrhée et nervosité.
- 2°: Légères contractions musculaires des membres.
- 3°: Tremblement généralisé, respiration accélérée, battements de coeur tumultueux.
- 4°: Crise tétanique très marquée avec convulsions intenses.
- 5°: Forme suraigue conduisant à la mort.

RESULTATS

Le tableau II résume les identités des vaches atteintes de tétanie d'herbage.

A propos de race des malades, nous avons constaté 37 cas, pour lesquels seuls 31 prélèvements ont pu être effectués à cause de demande urgente de traitement ; dans ces 37 cas, 22 étaient de race normande, 9 FFPN, 4 flamandes et 2 croisées de flamande et de FFPN. La maladie comme le montrent le tableau II et le graphique 1 se rencontre plutôt quand les vaches ont eu 4, 5 ou 7 veaux et 50 % des atteintes ont lieu au 2ème mois après vêlage c'est à dire en période de lactation maximum (graphique 2).

Quant à l'époque de l'année et au stade de pâture, comme le montre le tableau II, la plupart des atteintes ont eu lieu en mai, avec le plus fort pourcentage (80 %) pour 2 à 8 semaines de pâture.

Pratiquement toutes les prairies où nous avons rencontré la tétanie d'herbage étaient permanentes ; ces prairies avaient reçu des quantités assez variables d'engrais;

Tableau II : QUELQUES RENSEIGNEMENTS CONCERNANT L'IDENTITE DES ANIMAUX

N° de l'animal	Date	Race	Age et n° de veau	Stade de lactation en nombre de jours
1	7.5.69	Flamande	7 ; 5	15
2	8.5.69	F.F.P.N.	5 ; 3	10
3	8.5.69	Flamande	5 ; 3	38
4	8.5.69	"	10 ; 7	70
5	9.5.69	F.F.P.N.	7 ; 5	140
6	9.5.69	Fl x F.F.P.N.	8 ; 5	60
7	10.5.69	Normande	7 ; 5	180 (pleine)
8	10.5.69	"	6 ; 4	40
9	10.5.69	"	8 ; 6	30
10	12.5.69	Fl x F.F.P.N.	10 ; 7	70
11	12.5.69	Flamande	7 ; 4	15
12	12.5.69	F.F.P.N.	7 ; 4	20
13	13.5.69	Normande	7 ; 4	60
14	13.5.69	F.F.P.N.	7 ; 4	60
15	14.5.69	"	10 ; 7	60
16	15.5.69	"	7 ; 5	75
17	17.5.67	"	6 ; 4	60
18	17.5.67	Normande	9 ; 4	60
19	8.5.70	Normande	7 ; 4	78
20	8.5.70	"	3 ; 1	180
21	8.5.70	"	14 ; 11	25
22	30.4.70	"	7 ; 4	30
23	11.5.70	"	12 ; 9	60
24	11.5.70	"	7 ; 4	35
25	19.5.70	"	11 ; 8	42
26	22.5.70	"	10 ; 7	180
27	27.5.70	"	3 ; 1	90
28	25.5.70	"	7 ; 4	50
29	27.5.70	F.F.P.N.	5 ; 2	12
30	25.5.70	Normande	5 ; 2	75
31	19.6.70	"	7 ; 4	180

TABLEAU II (suite)

Stade en pâturage en nombre de semaines	Degré des symptômes	Prairie	Mode de fertilisation unités/hectare				Localité
			Potasse	Azote	Phosphate	Autres	
5	2°	Permanente	48	36	36		Gueshart - 80
5	2°	"	100	70	100	purin	St Riquier - 80
4	2°	"	0	0	0		Le Ponchel - 62
4	1°	"	70	70	70		"
5	4°	"	12	33,5	20		Maison-Ponthieu - 80
5	4°	"	42	56	98		Beauvoir-Riviere - 80
4	4°	"	12	33,5	20		Gueshart - 80
4	1°	"	200	15	0		Canoeux - 62
3	4°	"	160	50	0		Beauvoir-Riviere - 80
6	2°	"	20	0	20		Margicourt - 80
4	2°	"	20	0	20	5MgCO ₃ 27CaSO ₄	Auxi-le-Chateau - 80
4	2°	"	8	6	9		"
4	3°	"	33	42	33		"
4	3°	"	6	12	16		"
4	3°	"	20	10	20		Outrebois - 80
6	2°	"	10	10	10		Boufflus - 80
5	1°	"	10	10	10		"
6	2°	"	20	20	20		Gueshart - 80
2	2°	Temporaire	80	60	60		Gaillon - 27
6	2°	"	80	0	0		Chatillon - 35
2	2°	"	10	10	10		"
4	2°	"	10	10	10		"
3	2°	"	10	10	10		Montreuil de Landes - 35
2	2°	"	12	8	12		Prince - 35
4	5°	Permanente	12	8	12		Dieppe - 76
6	1°	Temporaire	Luzerne + dactyle				Plateau de Cocherel - 27
8	1°	"	13	13	0		Chatillon - 35
3	1°	Permanente	22	110	0		Mandres - 27
4	4°	"	70	100	180		"
3	1°	"	25	0	0		St Christophe/Havre - 27
8	1°	Temporaire	12	8	0		Chatillon - 35

TABLEAU III

Résultats des analyses de sang effectuées sur les vaches atteintes de
tétanie d'herbage

n° de l'animal	degré des symptômes	Mg plasma mg/l	Ca plasma mg/l	K plasma mg/l	Phosphore plasma mg % (inorganique)
1	2°	6,5	55	210,6	3,24
2	2°	16,4	47	195	1,15
3	2°	13	75	196,9	2,06
4	1°	13,8	70	186,4	1,74
5	4°	13,1	47	163,8	2,34
6	4°	15,3	75	284,7	9,8
7	4°	19,8	55	288,6	3,06
8	1°	13,8	45	210,6	1,54
9	4°	15,7	40	210,6	0,9
10	2°	6,3	80	257,4	3,65
11	2°	22,1	85	220,3	3,6
12	2°	15,4	75	280,8	3,8
13	3°	7,8	45	312	0,8
14	3°	18,1	75	263,2	4,2
15	3°	10,8	65	263,2	2,74
16	2°	16	85	226,2	3,3
17	1°	12,3	67	288,6	1,2
18	2°	12,3	73	239,8	3,1
19	2°	18	105	231	5,95
20	2°	24	101	187	5,9
21	2°	21	101	203	5,72
22	2°	5,6	103	214	4,22
23	2°	18	98	193	3,9
24	2°	16	103	186	4,38
25	5°	1,65	56	345	4,45
26	1°	7,25	77	230	4,0
27	1°	22	97	290	7,4
28	1°	22	93	300	7,3
29	4°	4,5	82	199,6	6,6
30	1°	3,75	86	273,7	6,7
31	1°	16	100	235	6,7

TABLEAU III (suite*)

n° de l'animal	Na plasma mg/l	mg % phosphore		Volumes % Réserve alcaline
		Total	organique	
19	3116	7,2	1,25	53,7
20	3128	9,4	3,5	51,5
21	3116	8,4	2,68	49,2
22	3128	6,3	2,08	49,2
23	3045	6,4	2,5	44,8
24	3116	6,2	1,82	62,7
25	3450	7,5	3,05	51,5
26	3266	7,3	3,3	48,6
27	2898	9,6	2,2	54,8
28	3220	11,3	4,0	53,7
29	3450	8,9	2,3	35,8
30	3450	12,8	6,1	55,0
31	3220	7,2	0,5	54,8

* Les dosages de Na, de P total et de Réserve alcaline n'ont été réalisés que pour les animaux vus au cours de notre seconde année d'études

Résumé des Valeurs moyennes obtenues ($P < 0,05$)

	Sur les vaches malades étudiées			Sur les témoins		
Réserve alcaline	51,07	±	3,69 ml %	52,4	±	2,2 ml %
Potassium	238	±	15 mg/l	230	±	17 mg/l
Sodium	3220	±	90 "	3233	±	95 "
Phosphore total	83,4	±	10,7 "	85	±	6,5 "
Phosphore plasmatique (inorg)	40,9	±	8 "	41,7	±	6,8 "
Magnésium	13,8	±	2,1 "	22,2	±	1,7 "
Calcium	76,1	±	7,4 "	101	±	4,4 "

- Potasse :

6,45 % n'en ont pas reçu,
70,9 % ont reçu de 1 à 50 unités/hectare de potasse,
16,1 % ont reçu entre 51 et 100 unités/hectare,
6,45 % ont reçu plus de 100 unités/hectare.

- Azote :

19 % n'en ont pas reçu,
61,2 % ont reçu de 1 à 50 unités/hectare d'azote,
16,1 % ont reçu entre 51 et 100 unités/hectare,
3,22 % ont reçu plus de 100 unités/hectare.

- Phosphate :

29 % n'en ont pas reçu,
54,8 % ont reçu entre 1 et 50 unités/hectare de phosphate
12,9 % ont reçu entre 51 et 100 unités/hectare,
3,22 % ont reçu plus de 100 unités/hectare.

Il nous est apparu impossible et hors de notre sujet d'étudier les relations entre les doses d'engrais et le nombre de cas de tétanie avec les données que nous en avons.

Le tableau III rassemble les résultats des analyses sanguines faites sur les 31 échantillons et comparés avec 20 témoins provenant de vaches laitières normales.

Les valeurs moyennes obtenues avec tous ces résultats peuvent être résumées ainsi :

Réserve alcaline	51,07	$\pm$ 3,69	ml %
Potassium	238	$\pm$ 15	mg/litre
Sodium	3220	$\pm$ 90	"
Phosphore total	83,4	$\pm$ 10,7	"
Phosphore plasmatique	40,9	$\pm$ 8	"
Magnésium	13,8	$\pm$ 2,1	"
Calcium	76,1	$\pm$ 7,4	"

Variations du potassium et du sodium :

Nous n'avons pas trouvé de changements significatifs en potassium et en sodium, bien qu'il y ait eu une légère augmentation du premier et une légère baisse du second.

Phosphore et Réserve alcaline :

Les concentrations moyennes en phosphore et réserve alcaline n'ont pas changé.

Magnésium :

On a constaté que la chute du magnésium est très significative malgré ses valeurs assez variées : $13,8 \pm 2,1$. La plupart des cas d'hypomagnésie (50 %) apparaissent chez des vaches qui sont entre le 30ème et le 60ème jour de lactation (graphique 2). Les baisses en magnésium les plus marquées se trouvent chez des vaches qui sont au 2ème, 4ème et 7ème veaux (graphique 1). Il y a une légère tendance non significative à une baisse du magnésium plasmatique avec aggravation des symptômes (figure 3). Dans ce graphique le 3ème degré donne un intervalle de confiance plus large. Pour le 5ème degré, nous n'avons eu qu'un seul cas.

Calcium :

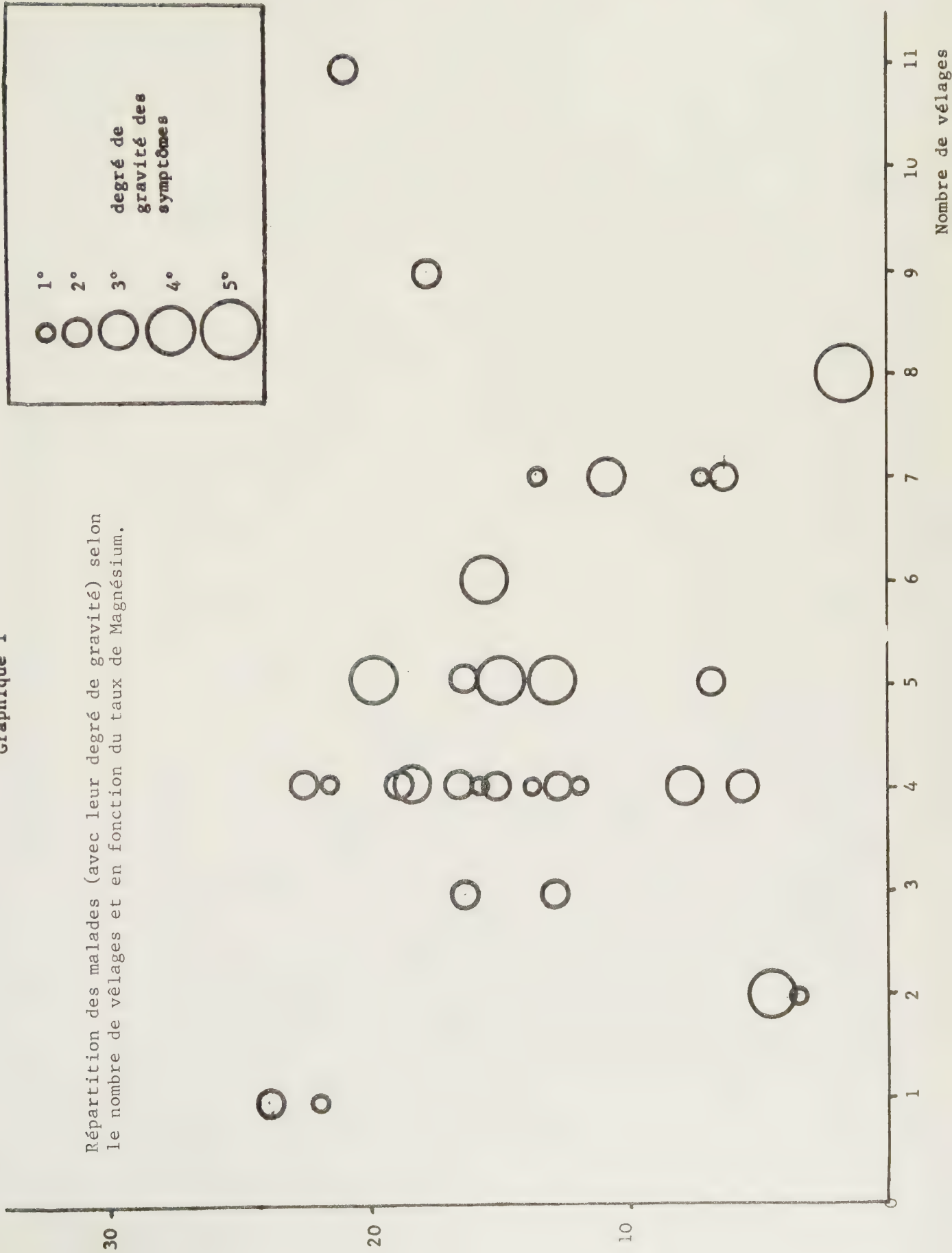
Les valeurs trouvées pour le calcium étaient moins réparties que celles trouvées pour le magnésium et la concentration moyenne encore plus significative que pour le magnésium. Comme le montre la figure 4, on trouve un tiers des valeurs basses en calcium entre le 30ème et le 60ème jour de lactation. Le calcium a aussi une légère tendance à la baisse en fonction de l'aggravation de la maladie (figure 5).

Relation de la maladie avec le calcium et le magnésium :

Bien que, le magnésium et le calcium se comportent de la même manière avec diminution de leurs taux, il semble que leurs concentrations diminuent indépendamment l'une de l'autre, puisqu'il n'y a pas de relation

Graphique 1

Répartition des malades (avec leur degré de gravité) selon le nombre de vélages et en fonction du taux de Magnésium.

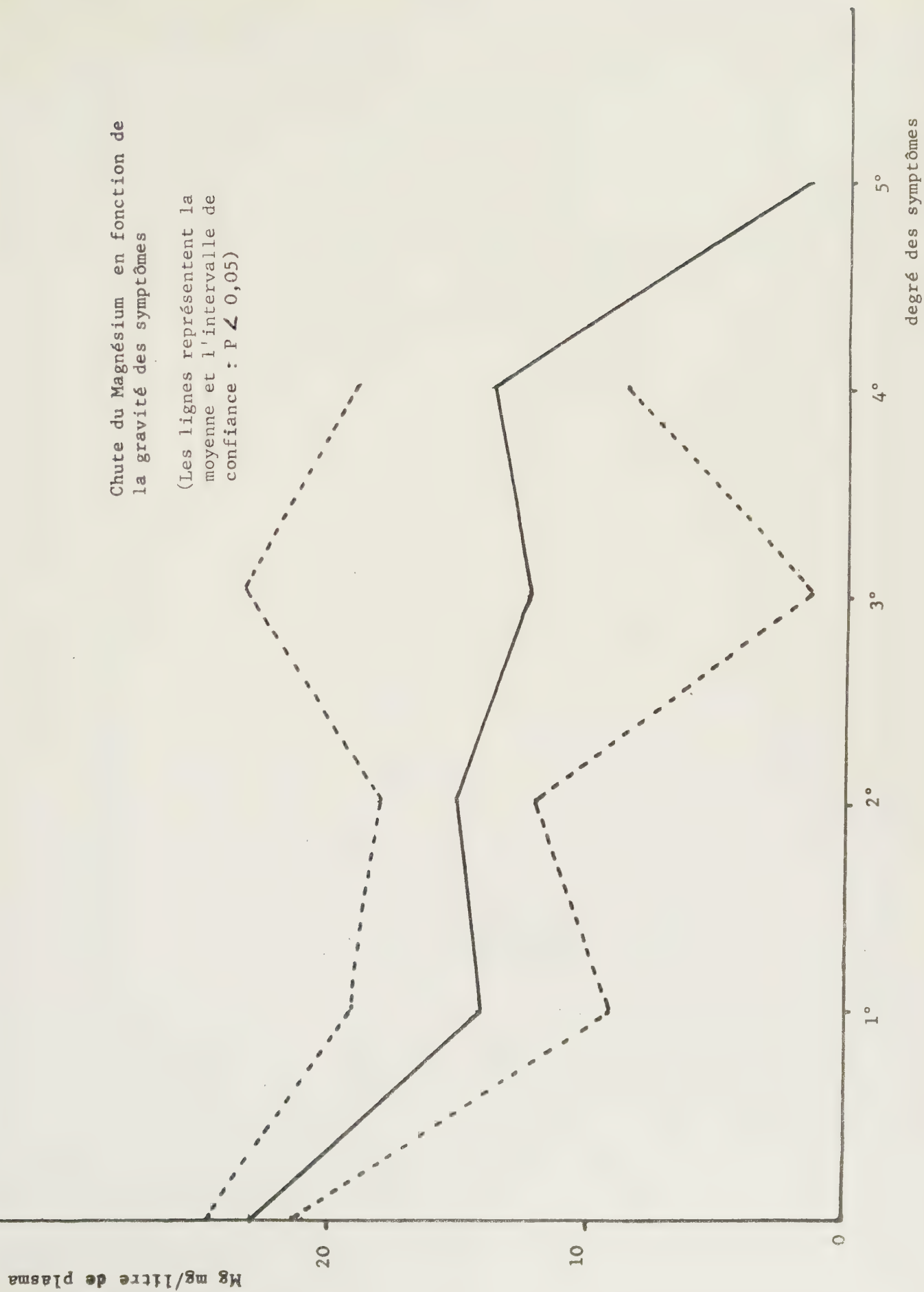


Graphique 2

Répartition des malades (avec leur degré de gravité) selon le stade de lactation et en fonction du taux de Magnésium.

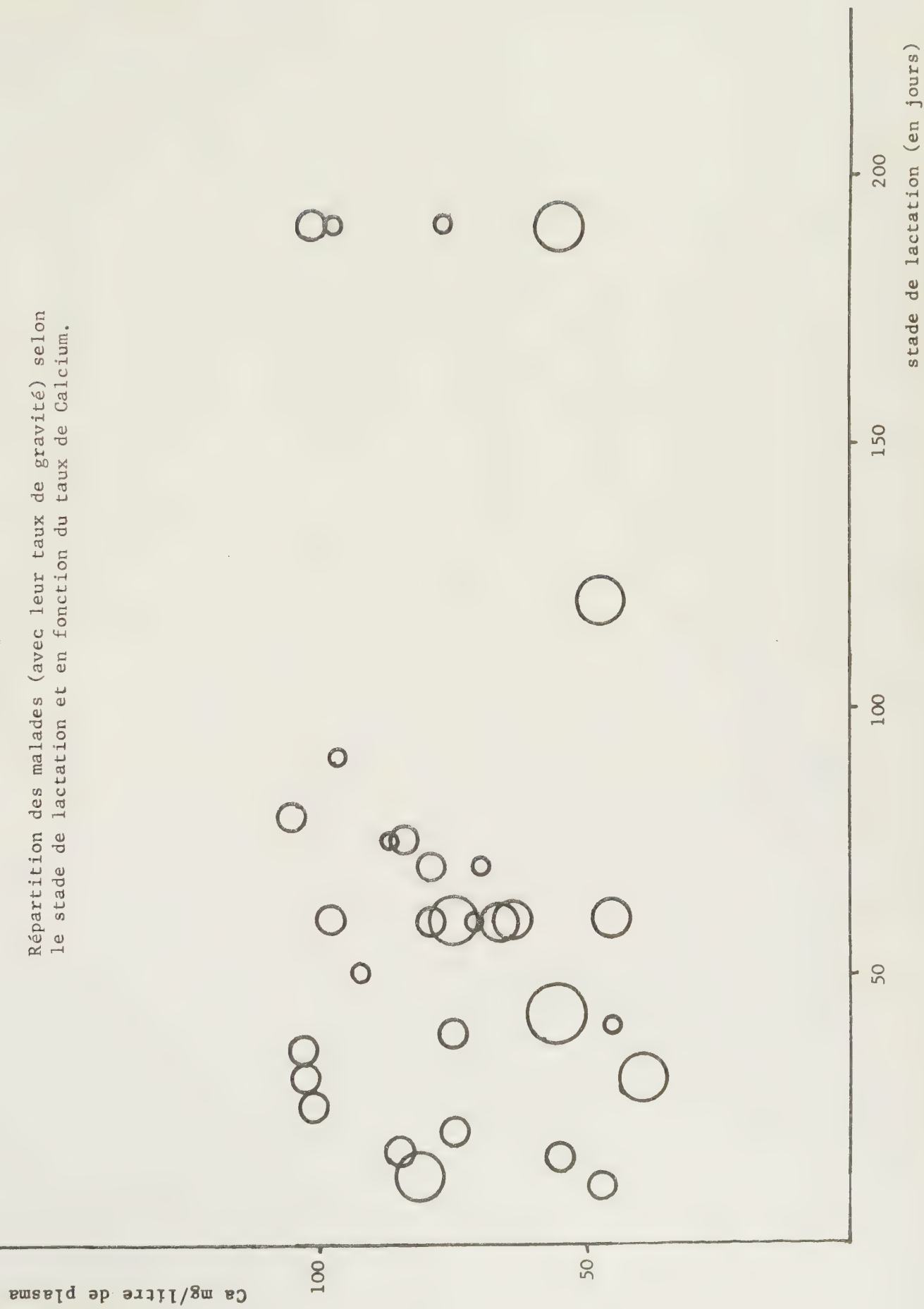


Graphique 3



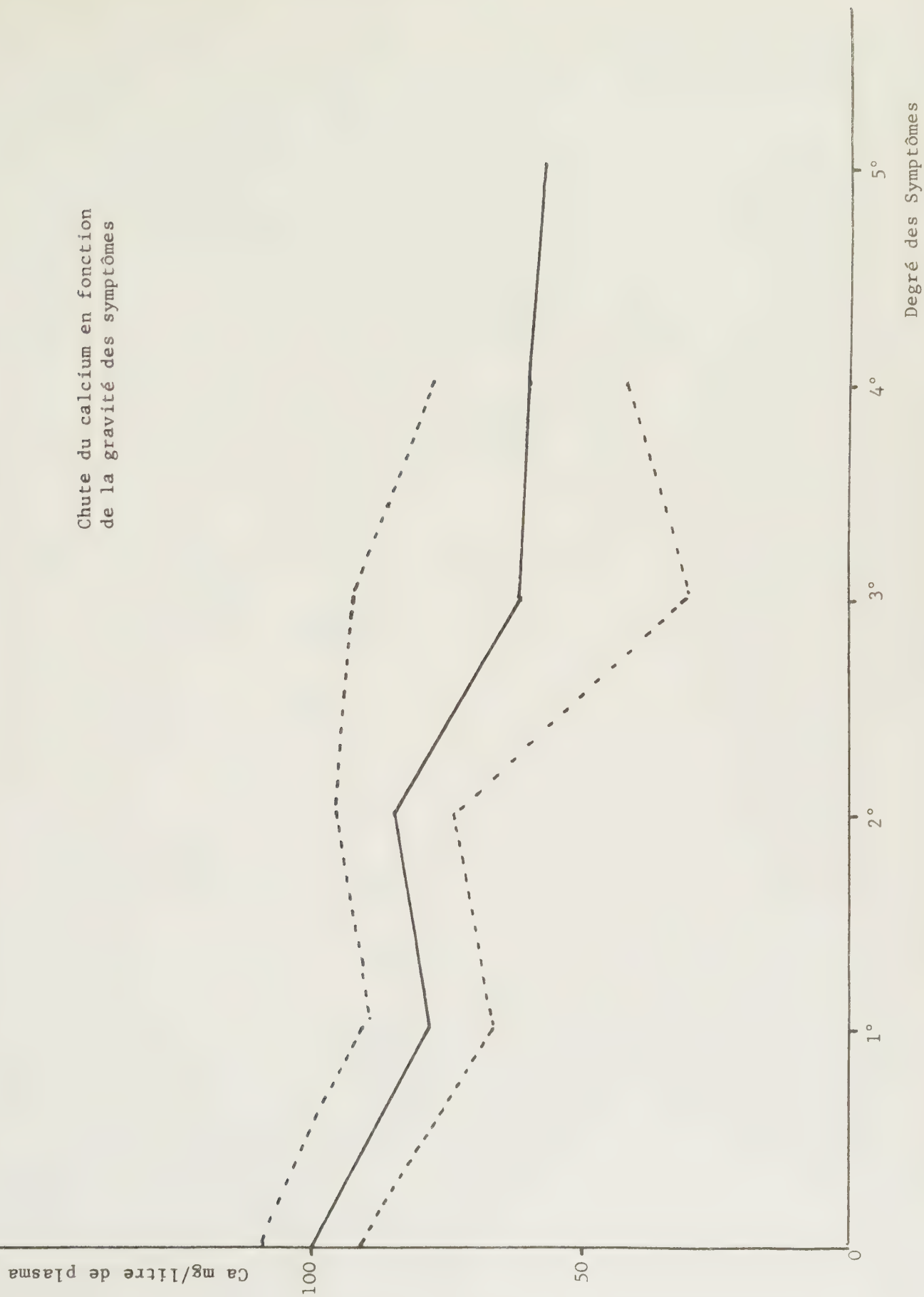
Graphique 4

Répartition des malades (avec leur taux de gravité) selon le stade de lactation et en fonction du taux de Calcium.



Graphique 5

Chute du calcium en fonction
de la gravité des symptômes



Graphique 6

Répartition des degrés de gravité en fonction des taux de Magnésium et de Calcium.

Mg (mg/1000 ml de plasma)

B = 13,8

20

15

10

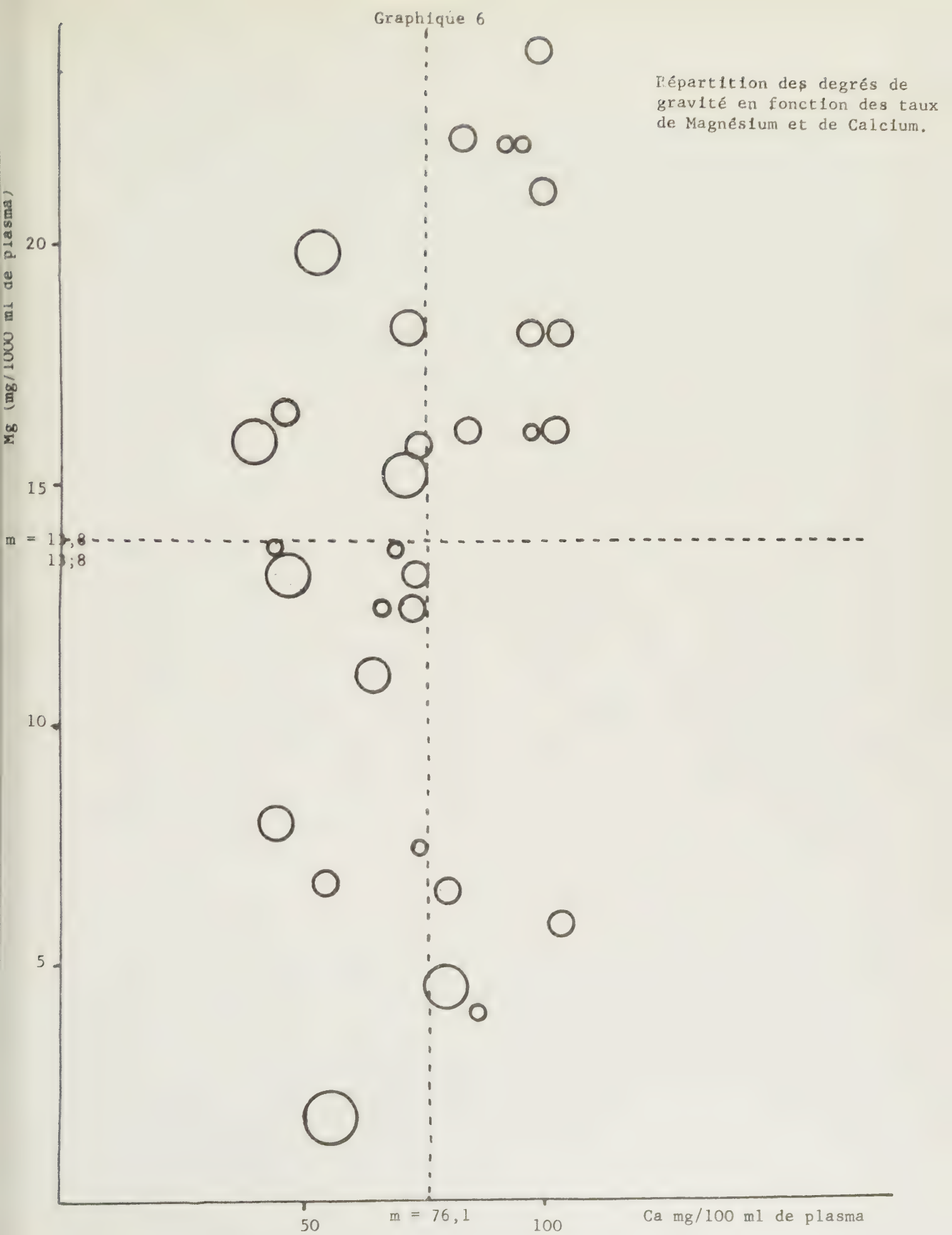
5

50

m = 76,1

100

Ca mg/100 ml de plasma



significative dans notre étude : $R = + 0,113$ (limite de R pour $P < 0,05 = 0,355$). Afin d'étudier ce sujet, nous avons placé les valeurs que nous avons trouvées pour le magnésium et la calcium en précisant cette fois sur la même figure (figure 6) les degrés d'aggravation des symptômes selon le diagnostic vétérinaire. Les concentrations moyennes du magnésium et du calcium ont également été indiquées sur la figure. Dans le rectangle en bas, et à gauche on trouve les sujets hypomagnésiques et hypocalcémiques au nombre de 11 ; les sommes des degrés d'aggravation dans ce cas sont de 25. La répartition moyenne de ces degrés de gravité par individu est donc de 2,27. Si on considère les animaux dont la teneur en magnésium du serum est en dessous de la moyenne, sans tenir compte s'ils sont ou non hypocalcémiques (c'est à dire toute la partie inférieure du graphique (figure 6), nous trouvons 15 cas de tétanie avec une moyenne de degré de gravité par animal de 2,20. Le nombre de degrés de gravité est donc dans nos études, sensiblement le même, que les animaux soient seulement hypomagnésiques ou hypomagnésiques et hypocalcémiques. Par contre en considérant le graphique on remarque immédiatement que tous les cas graves de tétanie (indices de gravité 3⁰, 4⁰ et 5⁰) sont pratiquement groupés dans toute la partie gauche du graphique, avec un taux de calcium en dessous de la moyenne. En effet, si nous considérons tous les malades qui se trouvent en-dessous du taux moyen de calcium, c'est à dire dans la partie à gauche de la limite $m = 76,1$, nous trouvons 17 animaux avec une répartition de degrés de gravité de 2,5, qui est donc supérieure aux deux autres déjà calculées. D'après ce graphique, on peut penser que l'hypocalcémie joue un rôle peut-être plus important que l'hypomagnésie dans l'apparition de la tétanie clinique.

DISCUSSION

Nos résultats des concentrations en potassium et en sodium ne montrent pas de variations et sont en accord avec ceux de HOPKIRK et Coll. (71), LARVOR (88).

Dans la littérature HARBAUGH et DENNIS (64), SIMS et CROOKSHANK (136), SINGER et Coll. (137) trouvent une augmentation du potassium, au contraire de EVANS et PHILLIPSON (48) HUGHES et CORNELIUS (72) qui eux signalent une diminution de cet élément.

Le phosphore total et le phosphore minéral ne montrent pas de variation dans nos analyses et sont semblables en cela aux résultats de UDALL (160), LADRAT et Coll. (87) et de LARVOR (88).

La réserve alcaline n'a pas varié, même au cours de tétanie forte. Ceci confirme ainsi les résultats de TODD et THOMSON (158).

Les variations plasmatiques du calcium et du magnésium en fonction des degrés de gravité des symptômes, sont comme le montrent les graphiques 3 et 5 assez semblables à ceux des résultats de LARVOR (88).

La basse quantité de magnésium que nous avons trouvée est un résultat commun dans l'ensemble des recherches concernant cette maladie. Il semble que durant le stade final des crises convulsives, le magnésium du sérum est souvent augmenté, peut être à cause de la décharge de magnésium dans le sang par contraction rapide des muscles (20). En effet, RAY (120) et THOMAS (156) ont montré que chez le veau hypomagnésique, il y a accroissement du magnésium plasmatique pendant et juste après les convulsions. C'est probablement de ce fait, que nous avons trouvé dans nos analyses de sang prélevé chez des vaches en périodes de convulsions, six cas où le taux de magnésium était de 2,0 mg/100 ml ou plus, au lieu d'être faible. Les expériences de ROOK et STORRY (127) montrent aussi que le magnésium du plasma tend à s'élever pendant les attaques convulsives, de sorte qu'un dosage de magnésium à ce moment peut avoir une valeur et un intérêt limité.

Sur 31 cas de tétanie d'herbage, selon nos analyses présentes, nous avons eu 9 cas avec des taux de calcium considérés comme normaux. C'est à dire que dans 71 % des cas, on a aussi une hypocalcémie. Ce pourcentage est assez voisin de ceux de ALLCROFT (7). En effet, ce dernier auteur rapporte que 76 % des 406 vaches souffrant de tétanie d'herbage pour lesquelles il fait des études, avaient une hypocalcémie associée. En ce qui concerne le calcium SEEKLES (133) prétend qu'en général dans les cas où il n'y a pas d'hypocalcémie, il n'apparaîtra pas de tétanie clinique même quand le taux de magnésium dans le sang est considérablement abaissé.

Les relations d'hypocalcémie avec la tétanie clinique exprimées partiellement dans le figure 6 sont en accord avec les expériences de DISHINGTON et TOLLERSRUD (40), constatant que l'hypocalcémie déclenche l'effet clinique de l'hypomagnésie.

B - ETUDE EXPERIMENTALE

Cette partie du travail est consacrée à l'étude de deux facteurs supposés avoir une responsabilité dans l'étiologie de la maladie.

Le premier de ces facteurs est la teneur en acides gras à longue chaîne de l'herbe. Selon les variétés de plantes, on a constaté que l'herbe de printemps peut contenir des quantités considérables d'acides gras à longue chaîne (21, 74). Ainsi, il a été suggéré (74, 83, 169, 38) que les acides gras à longue chaîne fortement non saturés (indice d'iode 180) qui se trouvent dans les herbes pourront interférer dans le métabolisme du magnésium en constituant des savons magnésiens insolubles. Dans ce cas, l'augmentation de la teneur en acides gras de la ration augmenterait le contenu magnésien des fèces et diminuerait parallèlement la concentration magnésienne du sang.

Le second facteur supposé, est que certaines herbes dans les pâtures accumulent de très grandes quantités de trans-aconitate (23, 147). L'ion trans-aconitate in vitro est un inhibiteur pour l'aconitase qui joue un rôle clé dans le métabolisme par sa contribution au cycle des acides tricarboxyliques (39). On a signalé (23, 147, 16, 15) que soit l'acide trans-aconitique, soit l'acide citrique en présence de chlorure de potassium peuvent être responsables de la tétanie d'herbage. Il nous a paru intéressant d'essayer de tester les deux hypothèses citées ci-dessus et d'en examiner les conséquences.

Matériel et Méthodes

Nous avons utilisé une seule vache non lactante de 375 kg pendant toute la durée des expériences. Avant l'expérience dans les conditions normales de l'étable, cette vache consommait environ 25 litres d'eau et 9 kg de foin (7,56 kg de matière sèche), par jour. Elle éliminait 14 kg de bouse (2,52 kg de matière sèche) et 13 litre d'urine. Les taux sanguins en éléments minéraux étaient normaux. Nous n'avons pas modifié la quantité de foin au cours de ces études, mais avons toujours noté le volume d'eau bue au gré de l'animal. Nous avons ramassé régulièrement les bouses journalières et l'urine à l'aide d'un dispositif adapté (162) afin de pouvoir redresser le bilan dans nos calculs et analyses.

Nous avons comparé les résultats obtenus avec notre animal avec ceux des autres vaches non lactantes, comme témoins se trouvant dans les mêmes conditions et hors d'expérience.

En premier lieu comme supplément, pendant 12 jours, nous avons donné à la vache 600 grammes de saindoux dont la moitié à 9 heures, et l'autre moitié à 18 heures, en mélangeant celui-ci avec du tourteau, en quantité minima. Nous avons toujours tenu compte dans nos calculs de la quantité de tourteau consommé. Au début, pour faire consommer à la vache 600 grammes de saindoux, il a été nécessaire d'ajouter 800 grammes de tourteau, puis en deux jours l'animal s'est accoutumé et nous avons pu réduire la quantité de tourteau de moitié de ce qu'elle avait du être le premier jour.

Pendant les deux premiers jours du régime supplémenté en saindoux, les bouses n'ont pas été analysées. Une prise de sang a été effectuée avant l'expérience et l'analyse faite, ainsi qu'une analyse de l'urine de 24 heures. De nouveau au 5ème et 12ème jour, le sang et l'urine de 24 heures ont été analysés. Les analyses de bouses ont été effectuées sur les prélèvements correspondant à 24 heures pendant toute la durée du régime.

Cinq jours après l'arrêt de l'administration de saindoux nous avons répété l'expérience avec de l'huile de tournesol pour remplacer le saindoux pendant 10 jours. Dans ce second essai, les bouses de vache des deux premiers jours n'ont pas été utilisées pour les analyses. Du sang et de l'urine de 24 heures des 5ème et 10ème jours ont été prélevés et analysés.

Pour notre deuxième groupe d'études, nous avons essayer de constater les effets d'un régime riche en acide trans-aconitique ou citrique en présence de chlorure de potassium.

Pour ceci, en premier lieu et pendant 6 jours, 300 grammes d'acide citrique et 300 g de chlorure de potassium ont été dissous dans environ 6 litres d'eau dont la moitié a été donnée le matin à 9 heures et le reste le soir à 18 heures à l'aide d'une bouteille. Les bouses sont journallement récupérées. Le sang et l'urine de 24 heures ont été dosés à la fin de l'expérience. L'animal n'a pas très bien supporté cette expérience. Bien que n'ayant pas perdu son appétit, elle éliminait à la fin une bouse contenant

du sang avec une diarrhée assez avancée.

Six jours après la fin de ce régime à l'acide citrique, la vache était revenue à un état normal. Elle n'avait plus de diarrhée, ni de sang dans la bouse.

Nous avons alors recommencé l'expérience en remplaçant l'acide citrique par une quantité égale d'acide trans-aconitique (300 g) additionné de chlorure de potassium (300 g) et l'administration a été également maintenue pendant six jours. Nous avons réutilisé le même processus d'administration. Au contraire de l'acide citrique, l'acide trans-aconitique n'a pas provoqué de diarrhée, ni amené la présence de sang dans les fèces.

Pour les concentrations de produits utilisés dans ces expériences, nous avons choisi les concentrations les plus fortes trouvées dans des herbages citées comme étant responsables de tétanie d'herbage, soit en lipides (83), soit en acides organiques (23, 147).

Les échantillons de nourriture et de bouse ont été séchés à 100° C pour la détermination de la matière sèche et calcinés ensuite pendant 24 heures à 550° C afin de permettre les déterminations du magnésium et du calcium. Tous les dosages de magnésium, soit dans la nourriture et la bouse (96), soit dans le sang et l'urine (121) ont été faits par spectrophotométrie d'absorption atomique, ainsi que les dosages de calcium (121).

Sur les bouses journalières les déterminations d'acides gras libres, de savons et d'acides gras à longue chaîne ont été réalisées titrimétriquement (38, 74), le plus rapidement possible afin d'éviter des changements probables du pH.

Le dosage des acides gras à longue chaîne est effectué après saponification par la potasse, libération par addition d'acide chlorhydrique, extraction par l'éther de pétrole et titration par la soude.

Les acides gras libres sont extraits directement par l'éther de pétrole et titrés par la soude. Pour déterminer la quantité de savons, on extrait les acides gras par de l'éther de pétrole après ébullition avec de l'acide chlorhydrique, et on les titre par la soude. La différence entre cette quantité et la quantité déterminée précédemment d'acides gras libres correspond aux savons.

Les mesures de phosphatase alcaline ont été faites parallèlement (122).

Enfin l'indice d'iode de l'huile de tournesol et du saindoux ont été calculés (110) et leur composition identifiée par chromatographie en phase gazeuse (159).

RESULTATS :

Dans le tableau IV, sont données les quantités d'acides gras libres, d'acides gras à longue chaîne et de savons qui ont été déterminées durant l'administration de saindoux et d'huile de tournesol à la vache. Durant ces deux régimes, l'excrétion fécale du magnésium était augmentée. Bien que cette excrétion ait été plus élevée durant le régime au saindoux, que durant le régime à l'huile de tournesol, ces valeurs ne diffèrent pas significativement de celles des témoins. (tableau IV).

Les acides gras à longue chaîne augmentent effectivement la formation de savons dans les bouses, et il existe une forte corrélation entre ces produits. Entre les acides gras à longue chaîne et les savons trouvés pendant le régime au saindoux, la relation est de l'ordre de $R = 0,856$ (limite de $R = 0,632$ pour $P < 0,05$), et pour l'huile de tournesol cette relation est de $R = 0,917$ (limite de $R = 0,707$ pour $P < 0,05$). La relation globale des acides gras à longue chaîne avec les savons est $R = 0,87$ (limite de $R = 0,468$ pour $P < 0,05$). Dans le graphique 7, cette relation a été montrée.

L'absence des acides gras libres dans les bouses recueillies pendant le régime à l'huile de tournesol, n'est qu'une conséquence de la digestibilité de cette graisse.

Les fluctuations dans les concentrations lipidiques des bouses sont partiellement dues à l'excrétion irrégulière par l'animal bien que les graisses soient données en deux temps. (le matin et le soir).

Avec le saindoux, parallèlement à l'augmentation de l'excrétion magnésienne par les fèces, en 4 à 5 jours, il y a une diminution des rejets par l'urine jusqu'à 0,52 g par jour au lieu d'une excrétion normale de 4,27 g (tableau V). Pour le tournesol, l'incidence est semblable mais probablement par suite de la haute digestibilité, la réduction de l'assimilabilité et les excrétions fécales et urinaires sont plus faibles (tableaux IV et V). Il n'y a pas eu de changement dans les concentrations de magnésium, calcium et phosphatase alcaline du sérum (tableau V). Le calcium continue à être rejeté sans montrer de variations.

TABLEAU IV

Mesures effectuées dans la bouse, pendant les régimes lipidiques

Expérience	jour	Milli-équivalent/100 g de mat.sèche			g de Mg/100 g mat.sèche excrétion fécale
		A G E	A G L	Savons	
Saïndoux	3e	16,5	2,5	18,3	$0,355 \pm 0,026$
"	4e	31,3	2,2	20,0	
"	5e	24,9	2,6	18,4	
"	6e	29,0	2,7	20,5	
"	7e	31,3	3,6	27,0	
"	8e	35,4	1,4	25,0	
"	9e	37,7	1,1	28,0	
"	10e	37,7	1,4	28,6	
"	11e	37,7	0,81	31,0	
"	12e	39,0	1,4	28,6	
Tournesol	3e	16,2	0	9,45	$0,319 \pm 0,031$
"	4e	30,1	0	25,5	
"	5e	35,0	0	28,0	
"	6e	22,2	0	16,6	
"	7e	24,9	0	22,4	
"	8e	24,9	0	17,0	
"	9e	23,3	0	11,0	
"	10e	18,1	0	11,0	$0,315 \pm 0,010$
Sans supplément		5,6	0	0	

A G E : acides gras à longue chaîne (estérifiés)

A G L : acides gras libres

Graphique 7

Mesures montrant, dans la bouse, les relations entre les Acides Gras Elevés et les formations en savons insolubles :

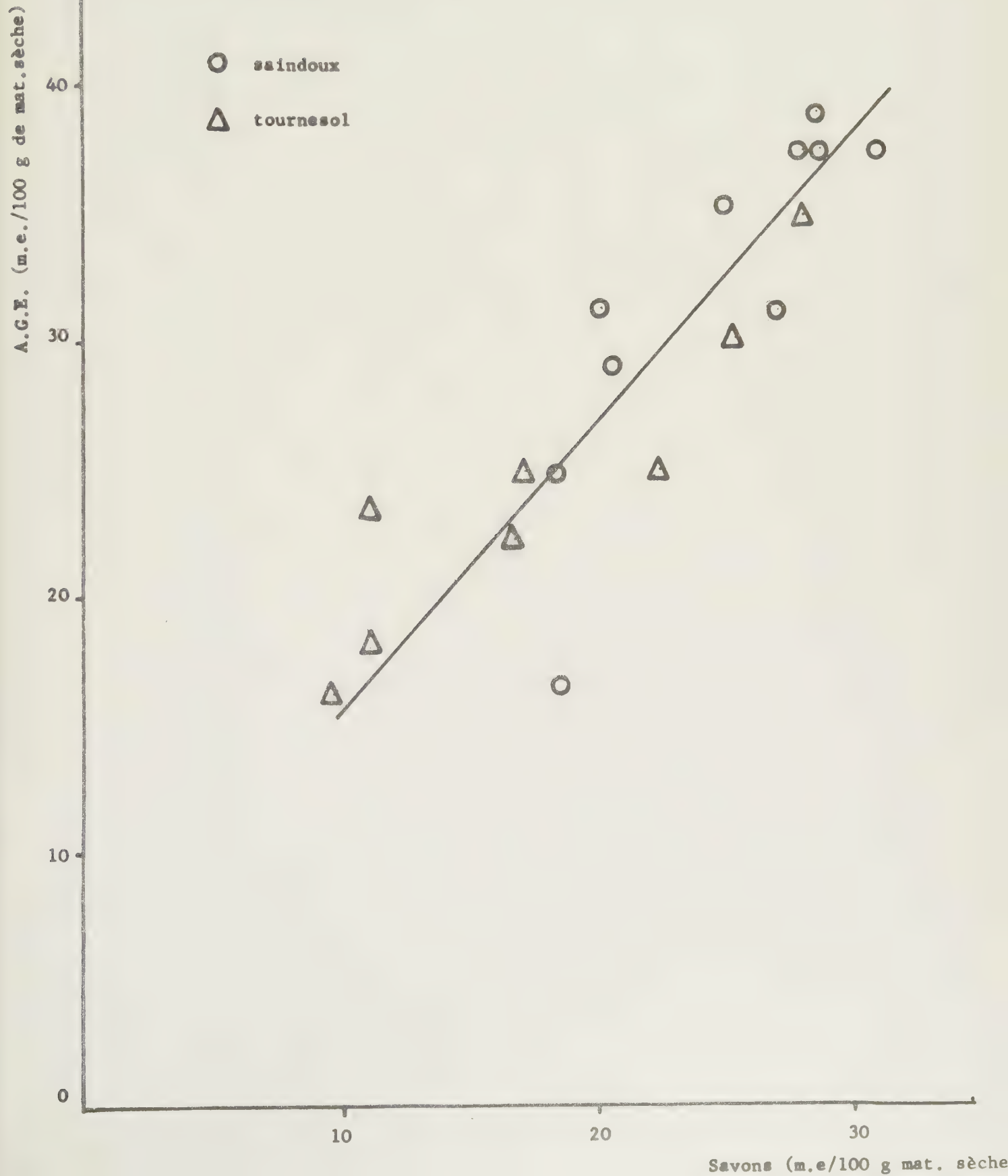


TABLEAU V

Expérience	Apport de Mg g/jour	Excrétion fécale de Mg (g/jour)	Excrétion urinaire de Mg (g/jour)	Mg assimilé %	Mg sérique mg/litre	Ca sérique mg/litre	Excrétion de Ca (g/jour)	Phosphatase alcaline mU/ml
Nourriture d'étable (foin)	13,14	7,81	4,27	40,5	23,5	89	0,29	27,3
+ saindoux 600 g/jour	13,14	8,44	0,52	35,8	23,0	91	0,37	30,4
+ tournesol 600 g/jour	13,14	7,97	1,3	39,3	23,1	88	0,32	31
+ KCl et ac. citrique 300 g + 300 g	13,14	8,64	0,58	34,2	23,5	88	0,13	33,6
+ KCl et ac. trans-aconitique 300 g + 300 g	13,14	8,62	0,2	34,4	23,5	97	0,26	34

Pendant les régimes où l'on administrait du chlorure de potassium additionné d'acides organiques (soit acide citrique, soit acide trans-aconitique), nous avons observé une augmentation significative d'excrétion fécale du magnésium (tableau V), ainsi qu'une réduction du magnésium urinaire et de l'assimilabilité. Il n'y a pas eu de variation du magnésium sérique, ni de la phosphatase alcaline, seule l'excrétion urinaire du calcium est légèrement réduite pendant l'administration de l'acide citrique.

DISCUSSION

Dans les régimes de matières grasses que nous avons utilisées, le saindoux avait un indice d'iode de 65 et était constitué en gros de :

- 1,6 % d'acide myristique
- 26,7 % d'acide palmitique
- 13,8 % d'acide stéarique
- 2,3 % d'acide palmitoléique
- 44,5 % d'acide oléique
- 10,9 % d'acide linoléique

L'huile de tournesol avait un indice d'iode de 127 et était constituée de :

- 0,04 % d'acide myristique
- 6,3 % d'acide palmitique
- 4,4 % d'acide stéarique
- 24,0 % d'acide oléique
- 65,1 % d'acide linoléique

Ces graisses ont été utilisées pour comparer leur rôle dans la formation des savons magnésiens. Le saindoux et l'huile de tournesol augmentent légèrement l'excrétion du magnésium, mais d'une manière non significative. Les quantités importantes de savons pourront donc être attribuées à d'autres produits que le magnésium. Ces complexes seraient essentiellement des savons de calcium (29) et se formeraient avec une vitesse notable à partir des acides gras libres (59). Au contraire des suggestions de certains auteurs (83, 74, 38) les acides gras dans nos résultats n'augmentent pas significativement l'excrétion magnésienne, d'autant moins que les acides gras non

saturés sont ici ceux qui ont des valeurs plus basses que celles obtenues avec les acides gras saturés.

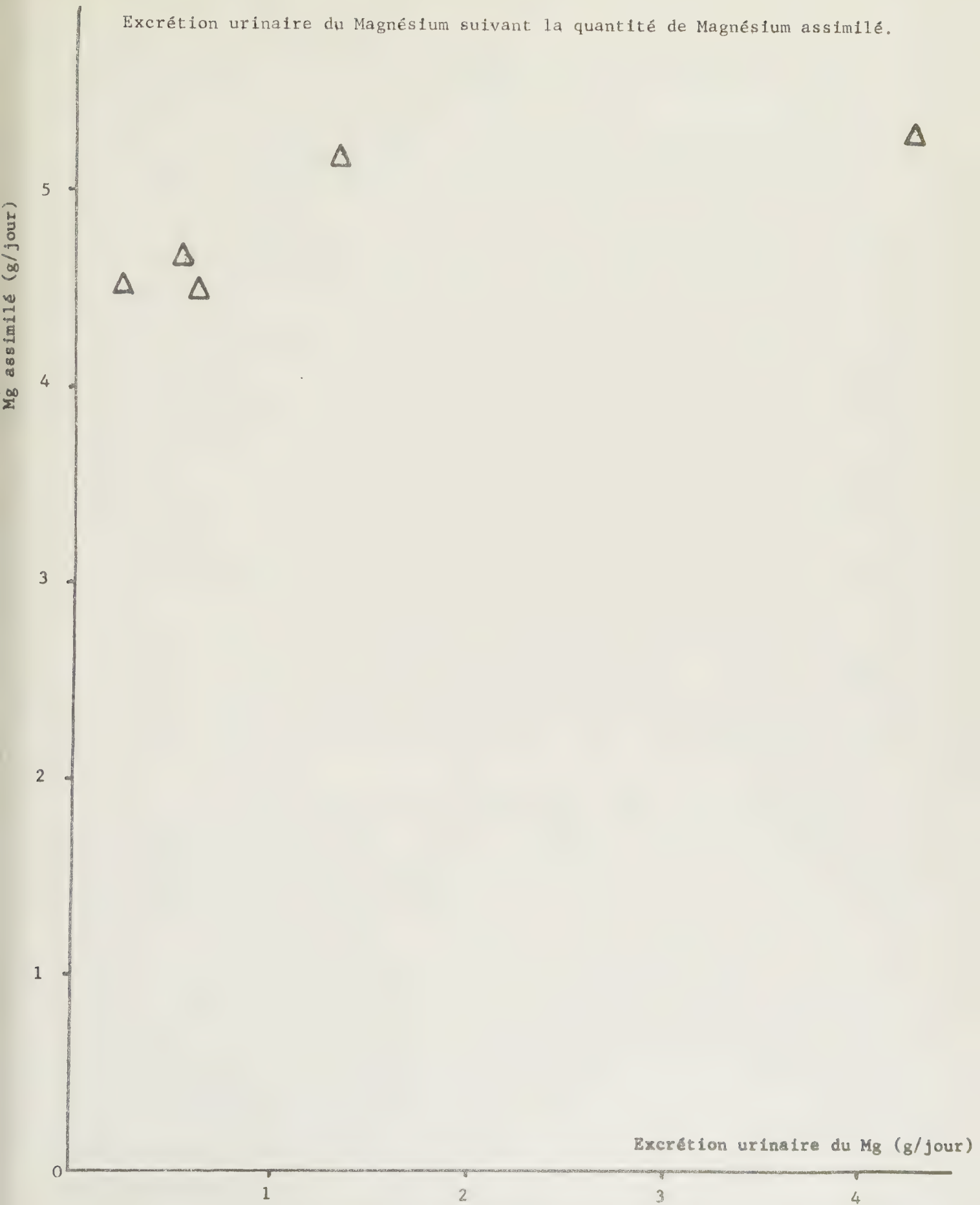
Les effets de l'acide trans-aconitique et de l'acide citrique produisant la tétanie d'herbage (23, 15, 16, 147) ne sont pas trouvés dans nos expériences puisque nous n'avons pas observé de diminution du magnésium sérique avec les régimes d'acides organiques durant les 6 jours d'application de chacun, bien que les doses aient été beaucoup plus élevées que la concentration de certaines herbes. Il y a eu une augmentation significative d'excrétion fécale du magnésium pendant ces deux dernières expériences. Cette excrétion importante du magnésium est due probablement non pas aux acides organiques utilisés, mais à une réduction de l'absorption par l'intestin due à la présence de quantités importantes de potassium (148). Il est supposé que le potassium joue un rôle plutôt quantitatif que qualitatif et qu'il exerce un effet dépressif direct additionnel dans l'assimilation du magnésium (149).

Lorsque le magnésium est absorbé en excès par rapport aux besoins, il est excrété et ne s'accumule pas chez les ruminants adultes. Ainsi, dès qu'il y a une diminution de l'apport ou de l'absorption du magnésium, elle est plutôt suivie par une diminution dans l'excrétion urinaire que par des abaissements des concentrations dans le serum ou les tissus (148). Ceci est partiellement montré sur le graphique 8 à partir des données de régime de nos expériences.

A l'état normal avec un régime non supplémenté, la vache absorbait par le tractus digestif 5,33 g de magnésium, et éliminait 4,24 g par la voie urinaire, journellement. Après 5 jours de régime à l'huile de tournesol où l'absorption journalière moyenne est réduite à 5,17 g, l'élimination urinaire descend à 1,3 g/jour. Si l'absorption du magnésium descend à 4,70 et 4,50 g (cas du régime au saindoux et des régimes acides organiques-chlorure de potassium) on voit l'excrétion urinaire descendre après quelques jours à environ 0,5 g/jour. Ceci montre combien l'élimination urinaire du magnésium est sensible aux apports de cet élément par le tractus digestif (graphique 8). Toutefois le petit nombre de nos observations ne permet pas une conclusion définitive sur ce point.

Graphique 8

Excrétion urinaire du Magnésium suivant la quantité de Magnésium assimilé.



CONCLUSION

L'étiologie de la Tétanie d'Herbage, doit être cherchée plus précisément dans le processus d'absorption du magnésium.

Comme nous l'avons montré, une fois que l'hypomagnésie est présente, l'hypocalcémie déclenche ou aggrave les symptômes tétaniques.

Il semble que le magnésium soit un élément dont l'assimilation est capable de subir facilement des variations sous de nombreuses influences dans le tractus digestif. Nous avons essayé de vérifier le rôle de deux des facteurs supposés prédisposants :

Concernant l'influence des acides gras, nous avons constaté une légère baisse de l'absorption du magnésium accompagnée d'une diminution importante de l'excrétion urinaire en magnésium. Ceci prouve que les besoins de l'organisme sont directement dépendants de l'apport intestinal journalier.

Concernant l'influence des acides organiques (trans-acétoacétique et citrique) nous n'avons pu mettre aucun effet de ces produits en évidence pour un rôle possible dans l'étiologie de la maladie. En effet, l'augmentation de l'excrétion fécale du magnésium qui a seule accompagné ces régimes, semble due plus au chlorure de potassium qui y était inclus qu'aux deux acides.

Ces résultats nous confirment dans l'opinion que la tétanie d'herbage ne saurait être attribuée à une seule cause, mais que la maladie n'apparaît que dans les cas d'une conjonction d'un certain nombre de causes prédisposantes et déterminantes.

BIBLIOGRAPHIE

1. ADAMSON, J. (Jr) - Vet.Rec., 1936, 48, 818.
2. ADMONT, P.H. et NAUDIN, J. - C.R.Acad.Agric., 1966, 52, 902.
3. Agricultural Research Council - The nutrient Requirements of farm Livestock, 1965, n°2, 55.
4. AIKAWA, J.K., RHOADES, E.L. et GORDON, G.S. - Proc.Soc.exp.Biol.Med., 1958, 98, 29.
5. ALBERS, R.W. - Ann.Rev.Biochem., 1967, 36, 727.
6. ALCOCK, N. et Mac INTYRE, I. - Clin.Sci., 1962, 22, 185.
7. ALLCROFT, W.M. - Vet.J., 1947, 103, 2, 30.
8. ALLCROFT, R. et BURNS, K.N. - N.Z. Vet.J., 1968, 16, 109.
9. ANTIGNAC, J.F.A. - Thesis Alfort, 1934.
10. BADINAND, A. et WINICKI, B. - Bull.Soc.Pharm.Lyon, 1958, 2, 45.
11. BLAKEMORE, F. et STEWAERT, J. - Univ. Cambridge Inst.Animal Pathol. Third Rep.of Director, 1932-33, p.159.
12. BLAXTER, K.L. et MacGILL, R. - Vet.Rev., 1956, 2, 35.
13. BLAXTER, K.L. et ROOK, J.A.F. - J.Comp.Path., 1954, 64, 176.
14. BLAXTER, K.L. et SHARMAN, G.A.M. - Vét.Rec., 1955, 67, 108.
15. BOHMAN, V.R. et Coll. - Agric.Res.Wash., 1969, 18, n°1, 7.
16. BOHMAN, V.R., LESPERANCES, A.L., HARDING, G.D. et GRUNES, D.L. - J.Anim.Sci. 1969, 29, 99.
17. BRANDSMA, S. - Mededel Landbouwhogeschool Wageningen, 1954, 54, 245.
18. BRENNER, S., JACOB, F. et MESELSON, M. - Nature, 1961, 190, 576.
19. BRIGHT, H.S. - Biochemistry, 1967, 6, 1191.
20. Brit.Vet.Assoc. - The husbandry and Diseases of Calves, 1957, p. 20 London.
21. BROUWER, E. - Rec.Trav.Chim., 1944, 63, 35.
22. BURNS, N.K. - In conference on Hypomagnesaemia. London British Veterinary Association, 1960.
23. BURAU, R. et STOUT, P.R. - Science, 1965, 150, 766.
24. BUTLER, E.J. - J.Agric.Sci., 1963, 60, 329.
25. BYGRAVE, F.I. - Nature, 1967, 214, 667.
26. CARE, A.D. et ROSS, D.B. - Res.Vet.Sci., 1963, 4, 24.
27. CARE, A.D. et VAN'T KLOOSTER, A.T. - J.Physiol., 1965, 177, 174.

28. CARE,A.D., VOWLES,L.E., MANN,S.O. et ROSS, D.B. - J. Agric. Sci., 1967, 68, 195.
29. CARROLL,K.K. et RICHARDS,J.F. - J.Nutr., 1958, 64, 411.
30. COHN,M. - Interpretation of NMR relaxation mechanism of water protons in solution of enzyme - manganese - substrate complexes from temperature dependance of relaxation rates. In : Magnetic Resonance in Biological Systems. Pergamon Press, 1967, 101.
31. CONWAY,E.J. - Microdiffusion Analysis and Volumetric Error, 4th Ed. London, Crosby, Lockwood and Son Ltd, 1957, p. 98.
32. CORNELIUS,C.E. et KANEKO,J.J. - Clinical Biochemistry of Domestic Animals Academic Press, New York and London, 1963, p.518.
33. CORNETTE,M. et MOINE,G. - Bull. Acad. Vet., 1969, 42, 145.
34. COX,R.P., GILBERT,P. et GRIFFIN,M.J. - Biochem.J., 1967, 105, 155.
35. CUNNINGHAM,I.J. - New Zealand J.Sci.Technol., 1936, 17, 775.
36. CUNNINGHAM;I.J. - New Zealand J.Sci.Technol., 1936, 18, 419.
37. DAS,H.K., GOLDSTEIN,A. et LOWNEY,L.I. - J.Mol.Biol., 1967, 24, 231.
38. DEIJS,W.B., HARBERTS,C.L. et KEMP,A. - Landwirtsch.Forsch., 1966, 19, 246.
39. DICKMAN,S.R. - Aconitase. The Enzymes, 2nd Ed. Vol.5, Academic Press, New York, 1961, p. 495.
40. DISHINGTON,I.N. et TOLLERSRUD,S. - Acta Vet.Scand., 1967, 8, 14.
41. DRYERRE,H. - Vet.Rec., 1932, 12, 1163.
42. EATON,R.H. et MOSS,W.D. - Biochem.J., 1967, 102, 917.
43. EATON,R.H. et MOSS,W.D. - Biochem.J., 1967, 105, 1307.
44. EATON,R.H. et MOSS,W.D. - Nature, 1967, 214, 842.
45. ENDER,F., HALSE,K. et SLAGSVOLD,P. - Norsk.Vet.Tidsskr., 1948, 60, 1 et 4.
46. ERDTMANN,H. - Z.Physiol.Chem., 1927,172, 182.
47. ERSHOFF,B.H. - Physiol.Rev., 1948, 28, 107.
48. EVANS,J.V. et PHILLIPSON,A.T. - J.Physiol., 1957, 135, 87.
49. FERNLEY,H.N. et WALKER,P.G. - Biochem.J., 1967, 104, 1011.
50. FERRO,P.V. et HAM,A.B. - Am.J.Clin.Path., 1957, 28, 208, 689.
51. FIELD,A.C. - Nature, 1959, 183, 983.
52. FIELD,A.C. - Brit.Vet.Assoc.Conf.on Hypomagnesaemia, London, 1960, p.13.
53. FIELD,A.C.- Brit.J.Nutrition, 1961, 15, 349:
54. FLINK,E.B. et JONES,J.E. - Am.N.Y.Acad.Sci., 1969, 162, 727.
55. FRESCO,J.R.,ADAMS,A., ASCIONE,R., HENLEY,D. et LINDAHL,T. - Cold Spring Harbor - Symposium on Quantitative Biology, 1966, 31, 527.

56. GEELLEN,M.J.H. - Proefschrift Rijk Universiteit, Utrecht, 1969, p. 114.
57. GEELLEN,M.J.H., VAN RHEENEN,D.L., HENDRIK ,H.J. et SEEKLES,L. - Tijdschr. Diergeneesk., 1966, 91, 1577.
58. GIBBS,M. - Ann.Rev.Biochem., 1967, 36, 757.
59. GIVENS,M.H. - J.Biol.Chem., 1917, 31, 441.
60. GODET,J. - Rec.Med.Vet., 1932, 108, 737.
61. GORDON,J. et LIPMANN,F. - J.Mol.Biol., 1967, 23, 23.
62. GROOT,Th.de - Brit.Vet.J., 1960, 116, 225.
63. GROS,F., HIATT,H., GILBERT,W., KURLAND,S.G., RISEBOROUGH,W.B. et WATSON,J.D. - Cold Spring Harbor, Symposium on Quantitative Biology, 1961, 26, 111.
64. HARBAUGH,J.V. et DENNIS,J. - Amer.J.Vet.Res., 1947, 8, 396.
65. HEAD,M.J. et ROOK,J.A.F. - Nature, 1955, 176, 262.
66. HEAD,M.J. et ROOK,J.A.F. - Proc.Nutrition Soc., 1957, 16, 25.
67. HENDRIKS,H.J. - Thesis, Rijk Univ. Utrecht, 1962, p.137.
68. HENDRIKS,H.J. - Nature, 1964, 203, 1306.
69. HENDRIKS,J.Z., ALCOCK,N. et ARCHIBALD,R.M. - Clin.Chem., 1963,9, 734.
70. HOLMES,O.W. - The Professor at the Breakfast Table, The Riverside Press, 1859.
71. HOPKIRK,C.S.M., MARSHALL,D. et BLAKE,T. - Vet.Rec., 1933, 13, 355.
72. HUGHES,J.P. et CORNELIUS,C.E. - Cornell Vet., 1960, 50, 26.
73. HVIDSTEN,H., ØDELIEN,M., BEARUG,R. et TOLLERSRUD,S. - Acta Agr.Scand., 1959, 9, 261.
74. IMMINK,H.J., GEURINK,H.J. et DEIJS,W.B. - Jaarb.I.B.S., 1965, p.103.
75. KATZ,A.I. et EPSTEIN,F.H. - New Eng.J.Med., 1968, 278, 253.
76. KEMP,A. - Neth.J.Agric.Sci., 1958, 6, 281.
77. KEMP,A. - Jaarb.Inst.biol.scheik.Onderz LandbGewass, 1959, p. 163.
78. KEMP,A. - Neth.J.Agric.Sci., 1960, 8, 281.
79. KEMP,A. - TIJDSCHR. Diergeness, 1962, 87, 8 et 529.
80. KEMP,A. - C.R.Acad.Agric. Paris, 1964, 50, 540.
81. KEMP,A. - Neth.J.Agric.Sci., 1964, 12, 263.
82. KEMP,A., DEIJS,W.B., HEMKES,O.J. et VAN ES, A.J.H.- Neth.J.Agric.Sci., 1961, 9, 134.
83. KEMP,A.,DEIJS,W.B. et KLUVERS,E. - Neth.J.Agric.Sci., 1966, 14, 290.
84. KEMP,A., DE GROOT,H. et SEEKLES,L. - Hypomagnésiémie et Tétanie d'herbage. Ed.Maloins, Paris, 1963.

85. KRACKENBURGER, H.F. et PETERSON, W.J. - Southern Co-op. Ser. Bull., 1954, 36, 98.
86. KURZWEG, G. et MASSMAN, W. - Röntgen - u. Laborpraxis, 1962, 2, 37.
87. LADRAT, J., LARVOR, P. et BROCHART, M. - Rev. Med. Vet., 1959, 135, 903.
88. LARVOR, P. - Ann. Zootech., 1962, 11, 135.
89. LARVOR, P. et GUEGEN, L. - Ann. Zootech., 1963, 12, 39.
90. LATTEUR, J.P. - Revue de l'Agriculture, Bruxelles, 1953, 7.
91. LEECH, F.B., DAVIS, M.E., MACRAE, W.D. et WITHERS, F.W. - Report of a National Survey in 1957 - 58, H.M.S.O. London, 1960.
92. LEHNINGER, A.L. et WADKINS, C.L. - A. Rev. Biochem., 1962, 31, 47.
93. LINE, C., HEAD, M.J., ROOK, J.A.F., FOOT, A.S. et ROWLAND, S.J. - J. Agric. Sci. Camb, 1958, 51, 353.
94. LOTHIAN, W. - Vet. Rec., 1931, 11, 585.
95. MacDONALD, D.C., CARE, A.D. et NOLAN, B. - Nature, 1959, 184, 736.
96. MacDONALD, M.A. et WATSON, L. - Clin. Chim. Acta., 1966, 14, 233.
97. MacINTYRE, I. - Proc. Roy. Soc. Med., 1959, 52, 212.
98. MALSTRÖM, B.G. - Arch. Biochem. Biophys., 1955, 58, 398.
99. MARCHESI, G.T. et PALADE, G.E. - J. Cell. Biol., 1967, 35, 385.
100. METZGER, H.J. - Cornell Vet., 1936, 26, 353.
101. MILDVAN, A.S. et COHN, M. - J. Biol. Chem., 1965, 240, 238.
102. MOLEN (Van der) - Hypomagnesaemia and grass fertilization in the Netherlands, Out. Agric., 1964, 4, 55, 63.
103. MOORE, P.B. - J. Mol. Biol., 1966, 18, 8.
104. MORRIS, J., BOUCKAERT, W., OYAERT et ROSSOU - Cité par Liégeois Ann. Med. Vet., 1953, III, 146.
105. MORRISON, J.F. et O'SULLIVAN, W.J. - Biochem. J., 1965, 94, 921.
106. MUDD, A.J. - Br. Vet. J., 1970, 126, 38.
107. NICHOLSON, J.A. et SHEARER, G.D. - Vet. J. 1938, 94, 388.
108. NOLAN, A.F., HULL, F.E. - Amer. J. Vet. Res., 1941, 2, 41.
109. NOVELLI, G.D. - Ann. Rev. Biochem., 1967, 36, 449.
110. OSER, B.L. - Hawk's Physiological Chemistry, 14th Ed. McGraw-Hill Book Company, New York, 1965, p. 1116, 126.
111. O'SULLIVAN, M. - J. Sci. Food Agric., 1968, 19, 12.
112. PARR, W.H. - Vet. Rec., 1957, 69, 71.
113. PENEKSKY, H.F. - J. Biol. Chem., 1967, 242, 5789.

114. PERRY, S.V. - Progress. Bioph. Molec. Biol., 1967, 17, 325.
115. PHILLIPS, C.S.G. et WILLIAMS, R.J.P. - Inorganic Chemistry, Oxford University Press, London, 1966, vol. 2, 48.
116. PHILLIPSON, A.T. et STORRY, J.E. - cités par ROOK, J.A.F. et STORRY, J.E., Nutr. Abst. and Reviews, 1962, 32, 1055.
117. PHILLIPSON, A.T. et STORRY, J.E. - J. Physiol., 1965, 181, 130.
118. PULMAN, M.E. et SCHATZ, G. - Ann. Rev. Biochem., 1967, 36, 539.
119. RASMUSSEN, H. et IENENHOUSE, A. - Am. J. Med., 1967, 33, 711.
120. RAY, S.N. - Indian J. Vet. Sci. Anim. Husb., 1942, 12, 204.
121. RAYNAUD, C. et GRIFFITHS, N. - Ann. Biol. Clin., 1967, 25, 10 et 1025.
122. RODIER, J. et MALLEIN, R. - Manuel de Biochimie Pratique, Librairie Maloine S.A. Paris, 1968, p. 267.
123. ROOK, J.A.F. - Nature, 1961, 191, 1019.
124. ROOK, J.A.F. et BALCH, C.C. - J. Agric. Sci., 1958, 51, 199.
125. ROOK, J.A.F. et BALCH, C.C. - J. Agric. Sci. Camb., 1962, 59, 103.
126. ROOK, J.A.F. et CAMPLING, R.C. - J. Agric. Sci., 1962, 59, 225.
127. ROOK, J.A.F. et STORRY, J.E. - Nutrition Abstracts and Reviews, 1962, 32, 1055.
128. ROGERS, T.A. et MAHAN, P.E. - Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 1959, 100, 235.
129. ROSS, D.B. et CARE, A.D. - Biochem. J., 1961, 82, 21.
130. SALAS, M., MILLER, M.J., WAHBA, A.J. et OCHOA, S. - Proc. Natl. Acad. Sci. Sci., 1967, 57, 1865.
131. SCHWEET, R. et HEINTZ, R. - Ann. Rev. Biochem., 1966, 35, 723.
132. SEEKLES, L. - Europ. Assoc. Animal Prod., 5th Meeting, Reading, 1955, p. 154.
133. SEEKLES, L. - Rep. IIIrd Int. Meet. Dis. Cattle, Copenhagen, 1964, p. 119.
134. SEEKLES, L. et HENDRIKS, H.J. - Tijdschr. Diergeneesk., 1963, 88, 1095.
135. SHOHL, A.T. - Mineral Metabolism, Reinhold, New York, 1939.
136. SIMS, F.H. et CROOKSHANK, H.R. - J. Anim. Sci., 1953, 12, 954.
137. SINGER, R.H., GRAINGER, R.B. et BAKER, R.H. - Kentucky Agric. Exper. Sta. Bull., 1958, 658, 15.
138. SJOLLEMA, B. - Tijdschr. Diergeneesk., 1928, 55, 1016, 1085, 1121 et 1187.
139. SMITH, R.H. - Biochem. J., 1957, 67, 472.
140. SMITH, R.H. - Biochem. J., 1958, 70, 201.
141. SMITH, R.H. - Nature, 1961, 191, 181.
142. SMYTH, P.J., CONWAY, A. et WALSH, M.J. - Vet. Rec., 1958, 70, 846.
143. STEWART, C.P. et FRAZER, S.C. - Adv. Clin. Chem., 1963, 6, 29.

144. STEWART,J. et MOODIE,E.W. - J.Comp.Path., 1956, 66, 10.
145. STORRY,J.E. - J.Agric.Sci., 1961, 57, 97 et 103.
146. STORRY,J.E. et ROOK,J.A.F. - J.Sci.Food Agric., 1962, 13, 621.
147. STOUT,P.R., BROWNELL,J. et BURAU,R.G. - Agron.J., 1967, 59, 21.
148. SUTTLE,N.F. et FIELD,A.C. - Brit.J.Nutr., 1967, 21, 819.
149. SUTTLE,N.F. et FIELD,A.C. - Brit.J.Nutr., 1969, 23, 81.
150. TABEL,H. - Thesis, Berlin. Über den Einfluss des Wetters auf das Auftreten der Weidetetanie bei Rindern., 1963.
151. TAKANAMI,M. et OKAMOTO,T. - J.Mol.Biol., 1963, 7, 323.
152. TAPERNOUX,A. et MAGAT,A. - Biol.C.R., 1960, 12, 2298.
153. TEIPEL,J.W. et KOSHLAND,D.E. - J.Biochemistry, 1971, 10, n°5, 792.
154. T'HART,M.L. et KEMP,A. - Tijdschr.Diergeneesk., 1956, 81, 84.
155. THIERS,R.E. et VALLEE,B.L. - J.Biol.Chem., 1957, 226, 911.
156. THOMAS,J.W. - Symposium on Magnesium and Agriculture, West Virginia University, 1959, p. 131.
157. TODD;J.R. et HORVATH,D.J. - Brit.Vet.J., 1970, 126, 333.
158. TODD,J.R. et THOMPSON,T.H. - Brit.Vet.J., 1960, 116, 437.
159. TRANCHANT,J. - Manuel Pratique de Chromatographie en Phase gazeuse Masson Ed. Paris, 1968, p.283.
160. UDALL,R.H. - Cornell Vet., 1947, 37, 314.
161. VAN DER HORST,C.J.G. et HENDRIKS,H.J. - Tijdschr.Diergeneesk., 1958, 83, 1162.
162. VAN ES,A.J.H. et VOGT,J.E. - J.Anim.sci., 1959, 18, 1220.
163. VAN KOETSVELDE,E. - Tijdschr.Diergeneesk., 1955, 80, 525.
164. WACKER,W.E.C. et PARISI,A.F. - New Eng.J.Med., 1968, 278, 658.
165. WALSHE,M.J. et CONWAY,A. - Proc.8th Internat.Grassland Congr.Reading, 1960, p.548.
166. WARBURG,O. et CHRISTEN,W. - Biochem.Z., 1941, 310, 385.
167. WILSON,A.A. - Vet.Rev., 1960, 6, 39.
168. WILSON,A.A. - The Vet.Rec., 1964, 76, 1382.
169. WIND,J., DEIJS,W.B. et KEMP,A. - Jaarb.Inst.Biol.Scheik.Onderz. LandbGewass., 1966, p.91.
170. WILLIAMS,R.J.F. et WACKER,W.E.C. - J.Am.Med.Assoc., 1967, 201, 18.

